CIENCIA

Revista hispano-americana de Ciencias puras y aplicadas

PUBLICACION DEL

PATRONATO DE CIENCIA

SUMARIO

Págs.

EDITORIAL III

DEDICACIÓN V

COMUNICACIONES ORIGINALES:

Insulina y recambio de fósforo, por FRANCISCO DE VENANZI 181

Diabetes e insulinoterapia. Reflexiones sobre su descubrimiento y las aportaciones de la escuela de A. Pi Suñer, por R. CARRASCO-FORMIGUERA 193

Receptores insulínicos y acción hormonal, por PEDRO CUATRECASAS 205

La hiperglucemia experimental en el acocil Procambarus bouvieri (*Ortmann*), por J. PUCHE, Y. BERDEJA y D. LÓPEZ 213

Sacarosa en las anteras de la "copa de oro", Solandra nitida (*Solanaceae*). *Componentes de flores tropicales, I,* por FRANCISCO GIRAL, MARÍA TERESA REGUERO y CARMEN RIVERA 229

TECNOLOGIA:

Captores de fuerza a bajo costo, por F. FOLCH, V. R. FERIA y R. G. LÓPEZ 231

ÍNDICE DE AUTORES DEL VOLUMEN XXIX 235

ÍNDICE DE MATERIAS DEL VOLUMEN XXIX 235

Volumen XXIX MEXICO, D. F. 1975 Números 3-4

CIENCIA

REVISTA HISPANO-AMERICANA DE CIENCIAS PURAS Y APLICADAS

DIRECTOR FUNDADOR
IGNACIO BOLIVAR Y URRUTIA †

DIRECTOR
CANDIDO BOLIVAR Y PIELTAIN

EDITOR
DIONISIO PELAEZ FERNANDEZ

CONSEJO EDITORIAL:

FRANCISCO GIRAL GONZALEZ   JOSE PUCHE ALVAREZ   JOSE IGNACIO BOLIVAR GOYANES

CONSEJO DE REDACCION

ALVAREZ FUERTES, DR. GABRIEL, México.
ARNÁIZ y FREG, DR. ARTURO. México.
ASENJO, DR. CONRADO F., San Juan, Puerto Rico.
BALL, DR. G. E. Edmonton, Canadá.
BAMBAREN, DR. CARLOS A., Lima, Perú.
BARGALLÓ, PROF. MODESTO. México.
BEIER, DR. MAX. Viena, Austria.
BELTRAN, DR. ENRIQUE. México.
BIRABEM, DR. MAX. Buenos Aires, Argentina.
BONET, DR. FEDERICO. México.
BOSCH GIMPERA, DR. PEDRO. México.
BRAVO-AHUJA, ING. VÍCTOR. México.
BUTTY, ING. ENRIQUE. Buenos Aires, Argentina.
CABRERA, PROF. ANGEL LULIO. La Plata, Argentina.
CARBONELL, DR. CARLOS S., Montevideo, Uruguay.
CÁRDENAS, DR. MARTÍN. Cochabamba, Bolivia.
CASTAÑEDA-AGULLÓ, DR. MANUEL. México.
COLLAZO, DR. JUAN A. A. Montevideo, Uruguay.
COSTERO, DR. ISAAC. México.
CORI, PROF. OSWALDO. Santiago de Chile, Chile.
CORONADO-GUTIÉRREZ, Biól. Luz. México.
CRUZ-COKE, DR. EDUARDO. Santiago de Chile, Chile.
CUATRECASAS, PROF. JOSÉ. Washington, D. C., EE. UU.
CHAGAS, DR. CARLOS. Río de Janeiro, Brasil.
DEULOFEU, DR. VENANCIO. Buenos Aires, Argentina.
ERDOS, ING. JOSÉ. México.
ESCUDERO, DR. PEDRO. Buenos Aires, Argentina.
ESPAÑOL, PROF. F. Barcelona, España.
ESTABLE, DR. CLEMENTE. Montevideo, Uruguay.
FLORKIN, PROF. MARCEL. Lieja, Bélgica.
FOLCH y PI, DR. ALBERTO, México.
FONSECA, DR. FLAVIO DA. São Paulo, Brasil.
GONÇALVES DE LIMA, DR. OSWALDO. Recife, Brasil.
GRAEF, DR. CARLOS, México.
GRANDE, DR. FRANCISCO, Minneapolis, Estados Unidos.
GUZMÁN, ING. EDUARDO J. México.
GUZMÁN BARRÓN, DR. A. Lima. Perú.
HAHN, DR. FEDERICO L. México.
HARO, DR. GUILLERMO, Tonantzintla, México.
HEIM, PROF. ROGER. París, Francia.
HENDRICHS, ING. JORGE. México.
HOFFSTETTER, DR. ROBERT. París, Francia.
HORMAECHE, DR. ESTENIO. Montevideo, Uruguay.
HUBBS, PROF. C. La Jolla, California, EE. UU.
KOPPISCH, DR. ENRIQUE. Puerto Rico.
LASNIER, DR. EUGENIO P. Montevideo, Uruguay.
LENT, DR. HERMAN. Río de Janeiro, Brasil.
LIPSCHUTZ, DR. ALEJANDRO. Santiago de Chile, Chile.
LUCO, DR. J. V. Santiago de Chile, Chile.
MACHADO, DR. ANTONIO DE B. Dundo, Angola.
MADRAZO GARAMENDI, QUÍM. MANUEL. México.
MARTÍNEZ, PROF. ANTONIO. Buenos Aires, Argentina.
MARTÍNEZ BÁEZ, DR. MANUEL. México.
MARTÍNEZ DURÁN, DR. CARLOS. Guatemala, Guatemala.
MARTÍNEZ DE LA ESCALERA, PROF. FERNANDO. Montevideo.
MARTINS, PROF. THALES. São Paulo, Brasil.
MASSIEU HELGUERA, DR. GUILLERMO. México.
MEDINA PERALTA, ING. MANUEL, México.
NÈGRE, JACQUES, Versailles, Francia.
NIETO, DR. DIONISIO. México.
OCHOA, DR. SEVERO. Nueva York, Estados Unidos.
OGUETA, ING. EZEQUIEL, Buenos Aires, Argentina.
ORIAS, PROF. OSCAR. Córdoba, Argentina.
ORIOL ANGUERA, DR. ANTONIO. México.
OSORIO TAFALL, DR. B. F. México.
PARODI, ING. LORENZO R. Buenos Aires, Argentina.
PEREIRA, PROF. FRANCISCO S. São Paulo, Brasil.
PÉREZ VITORIA, DR. AUGUSTO. París, Francia.
PÉREZ MIRAVETE, DR. ADOLFO, México.
ROTGER VILLAPLANA, P. BERNARDO. Denver, Colo., EE. UU.
RUIZ CASTAÑEDA, DR. MAXIMILIANO. México.
RZEDOWSKI, DR. JORGE, México.
SÁNCHEZ-MARROQUÍN, DR. ALFREDO. México.
SANDOVAL, DR. ARMANDO M. México.
SANDOVAL VALLARTA, DR. MANUEL. México.
SOBERÓN, DR. GUILLERMO. México.
STRANEO, PROF. S. L. Milán, Italia.
TUXEN, DR. SÖREN L. Copenhague, Dinamarca.
VANDEL, DR. ALBERT, Moulis, Pyr., Francia.
VIANA, DR. Buenos Aires, Argentina.
VILLELA, DR. G. Río de Janeiro, Brasil.
ZELEDON, PROF. RODRIGO, Costa Rica.

PATRONATO DE CIENCIA

PRESIDENTE
LIC. CARLOS PRIETO

VICEPRESIDENTE
DR. IGNACIO CHAVEZ

VOCALES

ING. GUSTAVO P. SERRANO   DR. JORGE CARRANZA   ING. RICARDO MONGES LOPEZ   ING. LEON SALINAS
SR. EMILIO SUBERBIE   DR. SALVADOR ZUBIRAN

CIENCIA

Revista hispano-americana de Ciencias puras y aplicadas

Volumen XXIX | *Diciembre, 1975* | Números 3-4

SUMARIO

Págs.

EDITORIAL III

DEDICACIÓN V

COMUNICACIONES ORIGINALES:

Insulina y recambio de fósforo, por FRANCISCO DE VENANZI 181

Diabetes e insulinoterapia. Reflexiones sobre su descubrimiento y las aportaciones de la escuela de A. Pi Suñer, por R. CARRASCO-FORMIGUERA 193

Receptores insulínicos y acción hormonal, por PEDRO CUATRECASAS 205

La hiperglucemia experimental en el acocil Procambarus bouvieri (*Ortmann*), por J. PUCHE, Y. BERDEJA y D. LÓPEZ 213

Sacarosa en las anteras de la "copa de oro", Solandra nitida (*Solanaceae*). *Componentes de flores tropicales, 1*, por FRANCISCO GIRAL, MARÍA TERESA REGUERO y CARMEN RIVERA 229

TECNOLOGIA:

Captores de fuerza a bajo costo, por F. FOLCH, V. R. FERIA y R. G. LÓPEZ 231

ÍNDICE DE AUTORES DEL VOLUMEN XXIX 235

ÍNDICE DE MATERIAS DEL VOLUMEN XXIX 235

CIENCIA

Revista hispano-americana de Ciencias puras y aplicadas

Volume XXIX | *December, 1975* | Number 3-4

CONTENTS

Page

EDITORIAL III

DEDICATION V

ORIGINAL PAPERS:

Insulin and phosphorus turnover, by FRANCISCO DE VENANZI 181

Diabetes and insulin-therapy. Discovery of insulin and contributions of A. Pi-Sunyer and his coworkers, by R. CARRASCO-FORMIGUERA 193

Insulin receptors and hormonal action, by PEDRO CUATRECASAS 205

Experimental hyperglycemia in the crayfish Procambarus bouvieri (*Ortmann*), by J. PUCHE, Y. BERDEJA and D. LÓPEZ 213

Sucrose in the anthers of "golden cup", Solandra nitida (*Solanaceae*), by FRANCISCO GIRAL, MARÍA TERESA REGUERO and CARMEN RIVERA 229

TECHNOLOGY:

Cheap transducers, by F. FOLCH, V. R. FERIA and R. G. LOPEZ 231

AUTHOR INDEX IN VOLUME XXIX 235

SUBJECT INDEX IN VOLUME XXIX 235

CIENCIA

REVISTA HISPANO-AMERICANA DE CIENCIAS PURAS Y APLICADAS

DIRECTOR FUNDADOR
IGNACIO BOLIVAR Y URRUTIA †

DIRECTOR
CANDIDO BOLIVAR Y PIELTAIN

EDITOR
DIONISIO PELAEZ FERNANDEZ

CONSEJO EDITORIAL
FRANCISCO GIRAL GONZALEZ JOSE PUCHE ALVAREZ JOSE IGNACIO BOLIVAR GOYANES

VOL. XXIX
NUMEROS 3-4

PUBLICACION TRIMESTRAL DEL
PATRONATO DE CIENCIA
CON LA AYUDA ECONOMICA DEL
CONSEJO NACIONAL DE CIENCIA Y TECNOLOGIA

MEXICO, D. F.
PUBLICADO: 15 DE DICIEMBRE DE 1975

REGISTRADA COMO ARTICULO DE 2A. CLASE EN LA ADMINISTRACION DE CORREOS DE MEXICO, D. F. CON FECHA 24 DE OCTUBRE, 194

Editorial

El lenguaje de la ciencia

La conveniencia de adoptar un lenguaje unitario para la comunicación científica se ha planteado en muchas ocasiones. Puesta a discusión en distintas asambleas y reuniones internacionales no fue posible arbitrar otro acuerdo que seguir con el uso simultáneo de los tres o cuatro idiomas más acreditados por sus aportaciones a la Ciencia.

Recientemente Kurt Kramer, en su calidad de presidente del XXV Congreso Internacional de Ciencias Fisiológicas, propuso la adopción del inglés como "nuevo latín" de nuestra época; adujo entre otras razoness la enorme producción científica de los fisiólogos de habla inglesa, el alto contenido de su léxico en raices romances y otro argumento, menos válido, la mayor facilidad que ofrece el "inglés básico" que el de otros idiomas europeos.

Si bien es cierto que el uso del latín sirvió durante varios siglos para el entendimiento en el orbe cristiano y también, es verdad, que el latín llevó a los pueblos de Occidente el contenido de las culturas clásicas; el saber científico medieval y del Renacimiento, sus creaciones, discrepancias y utopías se extendieron por Europa de otro modo; la información, procedente de varios idiomas y corrientes culturales, se tradujo al latín y simultáneamente a romances diversos. Buen ejemplo de esta pluralidad fue la afortunada convivencia lingüística e ideológica de cristianos, musulmanes y judíos en la escuela de traductores de Toledo.

¿Cuál es la situación que predomina en la actualidad? Más compleja y azarosa que la de cualquier otra época. Nunca con el rigor y la extensión de ahora, la Humanidad se siente amenazada por normas arbitrarias y descontenta por la restricción de su libertad.

El mundo que pudo ser, en una aspiración utópica del Renacimiento, "la patria de todos", desea organizarse en agrupaciones más afines. Los seres humanos aceptan de mal talante la sumisión a los poderes, cualesquiera que sean, en pugna por asumir la hegemonía sobre su destino. En este momento crucial, con el desarrollo alucinante de la Ciencia, los hombres que contribuyen a su engrandecimiento, ante las perspectivas de su aplicación destructora, tratan de imaginar nuevas utopías o arbitrios que aquieten sus temores.

Se ha dicho que no existen pueblos bilingües y en los que parecen ser tales, uno de los dos lenguajes es el único verdadero. Es evidente que la superposición de un idioma sobre cualquier otro, acorta su valor expresivo, desfigura los conceptos y acaba por anularlo. Esta situación se agrava en el lenguaje científico al añadir los galimatías de las siglas, pues lo convierte en una jerigonza insoportable.

¿Cuál pudiera ser la solución viable? Proponemos la siguiente: Escribir con la mayor concisión posible en el idioma nacional de cada país; tomar en cuenta las aportaciones publicadas en los otros, para evitar repeticiones inútiles. Agregar un resumen de los conceptos y de los resultados concretos en los idiomas de mayor aceptación. Unificar el uso de las siglas y de las unidades de medida y aclarar su significado al comienzo de las comunicaciones. Ampliar el uso de gráficas, fórmulas y símbolos matemáticos.

Y como colofón añadiremos que el mérito de un trabajo científico no depende del idioma en que aparezca escrito, sino de su contenido y de su veracidad.

En cuanto a las normas para seleccionar y difundir el trabajo científico habremos de opinar en otra ocasión.

EL PATRONATO DE CIENCIA

AGRADECE LA AYUDA ECONÓMICA PRESTADA

POR EL

CONSEJO NACIONAL DE CIENCIA Y TECNOLOGIA

LA

COMPAÑIA FUNDIDORA DE FIERRO Y ACERO DE

MONTERREY, S. A.

Y EL

BANCO DE MEXICO, S. A.

Dedicación

Este número de la revista Ciencia está dedicado a rememorar las extraordinarias aportaciones del maestro Augusto Pi-Suñer a la enseñanza y a la investigación de la Fisiología.

Algunos de sus colaboradores y discípulos más cercanos nos han enviado sendos trabajos que permiten ofrecer a nuestros lectores la vigencia de muchas de las ideas e investigaciones de este sabio excepcional.

Desde las cátedras que honró y especialmente desde el Instituto de Fisiología de Barcelona, fundado por la Generalidad de Cataluña, impulsó, como ningún otro contemporáneo suyo pudo hacerlo, el desarrollo de las ciencias fisiológicas en España y en América. El brutal desmantelamiento del Instituto de Fisiología por el encono de las hordas fascistas frustró temporalmente la labor científica de Pi-Suñer y de sus discípulos y además malogró la integración de la Ciencia y de la Cultura españolas en el rango que conquistaba de nuevo entre los países considerados avanzada de Europa.

La primera relación directa con América se produjo al ocupar la cátedra Ramón y Cajal en Buenos Aires (1919) que dio origen a una de sus obras más significativas "Los mecanismos de correlación fisiológica, adaptación interna y unificación funcional". En ella establece, sobre nuevos fundamentos, la doctrina iniciada por Cl. Bernard. Unos años más tarde fue ampliada y difundida por el maestro W. B. Cannon en su libro famoso "The Wisdom of the Body". Homeostasis y regulación adaptativa siguen siendo conceptos sinónimos, pero el desarrollo que diera Pi-Suñer a estos conceptos ofrece perspectivas que coinciden y otras que difieren, de las que sustentara el maestro bostoniano.

Durante su estancia en la República Argentina pudo influir afortunadamente en la designación de Bernardo H. Houssay para dirigir, desde la cátedra de Fisiología, al grupo de entusiastas fisiólogos que formaron luego el Instituto de Fisiología y Medicina Experimental de Buenos Aires que dieron y siguen dando prestigio a su país.

De regreso a Barcelona, Pi-Suñer tuvo el acierto de atraer a otro fisiólogo ilustre, Juan Negrín, a la sazón en Alemania, para ocupar unos meses más tarde la cátedra de D. José Gómez Ocaña en la Facultad de Medicina de Madrid, donde muy pronto el talento y la prodigiosa información de Negrín logró agrupar a valiosos investigadores.

Pi-Suñer siguió en su empeño de elevar el tono de la vida universitaria española y de varios países americanos. Su valimiento internacional facilitó el intercambio científico con las personalidades mas señeras de Europa y de América. La relación con los Estados Unidos de América fue muy asidua a través de Cannon y de Fulton, que tuvieron consigo a dos de sus mejores discípulos: Rosendo Carrasco-Formiguera y Jaime Pi-Suñer. Carrasco, como relata en su trabajo, merced a su relación con Mc. Leod, Joslin y Banting trajo a España las primicias del descubrimiento de la insulina y en el Instituto de Fisiología de Barcelona obtuvo los primeros extractos activos.

Las relaciones del grupo barcelonés con México fueron iniciadas por el maestro J. J. Izquierdo, quien se mantuvo siempre atento a la corriente de renovación de la Fisiología, la cual aumentó en intensidad a la llegada en 1939 de un grupo numeroso de colegas que recibieron fraternal acogida

en este país y fueron acomodados, de inmediato, a sus quehaceres científicos, docentes y profesionales.

Pero fue en Venezuela donde Pi-Suñer dejó testimonio mas fecundo de su entrega a la enseñanza y a la investigación. Los amigos e instituciones que dejó en Caracas son prueba elocuente de ello.

Los trabajos reunidos en este número extraordinario de nuestra revista recuerdan, no sólo aspectos pretéritos, sino también otros de palpitante actualidad, que demuestran la trascendencia que Pi-Suñer infundió a la Fisiología en las naciones de habla española a través de su cátedra, de sus publicaciones y de la promoción de profesores y discípulos.

Entre los colaboradores más jóvenes de Ciencia *deseamos señalar la presencia de Pedro Cuatrecasas, hijo del eminente naturalista cuyas aportaciones científicas han honrado con frecuencia nuestra publicación. Pedro Cuatrecasas, sin nexo directo con el Maestro Pi-Suñer, hállase aplicado, con éxito evidente, a dilucidar problemas íntimamente vinculados a los que fueron objeto principal de las investigaciones de la escuela barcelonesa.*

Poner de manifiesto estos antecedentes científicos, sociales e internacionales justifica la necesidad de comentarlos y ampliarlos para que, al difundir su conocimiento, adquieran el valor que merecen en el ámbito científico.

NOTA:

Por circunstancias imprevisibles y de fuerza mayor, nuestra revista ha sufrido un retardo considerable en su publicación. Rogamos a nuestros suscriptores, amigos y colaboradores disculpen esta involuntaria recesión que esperamos subsanar en lo sucesivo.

CIENCIA
Revista hispano-americana de
Ciencias puras y aplicadas

Instrucciones a los autores

Esta revista sólo publicará trabajos originales e inéditos.

El Consejo Editorial se reserva el derecho de aceptar o rechazar los trabajos recibidos. Los originales sólo se devolverán a petición expresa del autor.

La Revita aceptará trabajos escritos en español, portugués, francés, inglés, italiano y alemán.

Conforme a las recomendaciones de la *UNESCO*, el *Consejo Internacional de Uniones Científicas, la Federación Internacional de Documentación*, etc., *(UNESCO/NS/177, 1962)*, los trabajos se clasificarán en las siguientes categorías principales, con algunas subdivisiones ya conocidas de nuestra publicación:

a) *Memorias científicas originales.*

b) *Notas preliminares o publicaciones provisionales.*

c) *Estudios recapitulativos o revisiones.*

Especialmente para los trabajos que, a juicio de los autores, correspondan a una de las dos primeras (*a* o *b*), se les recomienda ajustarse tan estrictamente como les sea posible a las instrucciones que siguen.

Redacción del texto

Título

Deberá ser tan corto como sea posible, escrito totalmente en mayúsculas y no incluirá abreviaturas. El autor debe agregar su traducción al inglés (o al español, si está redactado en aquel idioma) y señalará en ambos casos las palabras clave del trabajo que permitan identificar su naturaleza y contenido y faciliten la elaboración del índice de materias.

Nombres del o de los autores

A continuación del título y en líneas bien separadas de aquel, se escribirán (también totalmente con mayúsculas) en la forma que acostumbren hacerlo para sus publicaciones, marcando claramente con tinta los acentos, tildes o guiones propios de su correcta ortografía. Seguidamente y aparte, se indicará la institución en que se hizo el trabajo y la dirección de la misma.

Resúmenes

Presentados en hoja por separado, serán redactados por el autor dos resúmenes, cuidando de que cada uno no tenga una extensión mayor de 200 palabras: el 1o., en el mismo idioma utilizado en el texto, y el 2o., en inglés. Si el trabajo está escrito en esta última lengua, deberá adjuntarse su traducción al español.

Introducción

Asentará con claridad los objetivos del trabajo y sus relaciones con otros anteriormente publicados sobre el mismo tema, evitando revisiones bibliográficas extensas.

Material y métodos

Se indicarán los materiales empleados y los métodos seguidos; cuando éstos sean nuevos o poco usuales, se describirán detalladamente, y los demás con brevedad o, mejor aún, señalando tan sólo la referencia bibliográfica correspondiente.

Resultados

Comprenderán exclusivamente los obtenidos en el trabajo que se publica, evitando en lo posible interpretaciones o discusiones personales. Su exposición mediante gráficas, tablas e ilustraciones, es preferible en muchos casos, siempre que se tienda a no incurrir en duplicidades inútiles.

Discusión

Se limitará exclusivamente a los resultados obtenidos en el trabajo, su significación y la relación que tengan con los publicados por otros autores, evitando hipótesis que no estén basadas en los datos presentados por el autor.

Referencias bibliográficas

Por ser ésta una revista multidisciplinaria no pueden establecerse normas específicas para la presentación de la bibliografía. Cada autor deberá apegarse a las reglas establecidas para su especialidad por alguna de las publicaciones periódicas internacionales de reconocido prestigio.

Presentación del manuscrito

El trabajo se presentará mecanografiado con tipo estándar, a doble espacio y dejando márgenes de 4 y 3 cm, en hojas tamaño carta de papel blanco apropiado para poder corregir con tinta. Se evitará el cortar palabras en el margen derecho o igualar con guiones innecesarios.

No deberá exceder de 15 cuartillas, salvo casos excepcionales que se discutirán con el editor, y todas irán numeradas progresivamente. Si es necesario hacer alguna pequeña corrección en el manuscrito, ésta se escribirá con tinta, suficientemente clara y en letra de molde.

Los resúmenes, tablas y cuadros deberán presentarse cada uno en una hoja por separado. Las tablas se numerarán con caracteres romanos, en serie independiente de la de las figuras (si las hay), debiendo llevar cada una su leyenda o título explicativo, lo mismo que los cuadros.

Es indispensable enviar el *original* del trabajo mecanografiado y una *copia* del mismo.

Ilustraciones

Las gráficas y dibujos —siempre *originales*, no reproducciones fotográficas— deberán trazarse con tinta china negra sobre papel blanco, de preferencia de tipo "albanene", y de un tamaño doble o triple del que se desea que aparezcan en la Revista. No debe utilizarse papel pautado comercial: cuadriculado, milimétrico, semilogarítmico, etc.

Las fotografías serán copias en blanco y negro, hechas en papel brillante y bien contrastadas.

Como una guía para preparar los originales con un tamaño conveniente, debe tenerse en cuenta lo que sigue: las dimensiones máximas con que puede aparecer impresa una ilustración en la Revista (plana completa) son de 23.5 × 15.5 cm; en estas medidas queda incluido el espacio que ocupará el título y el pie o explicación de la figura, así como la clave de símbolos o signos convencionales en el caso de mapas, gráficas, etc.; la anchura de una sola columna es de 7.5 cm.

Todas las ilustraciones, a las que conjuntamente se hará referencia en el texto como "figuras" (dibujos, gráficas, fotografías) se ordenarán progresivamente con números arábigos. Las escalas, números y letras correspondientes a cada una deben dibujarse sobre la propia figura, calculando bien su tamaño para que conserven su nitidez en los grabados.

La totalidad de las explicaciones o pies de las figuras, con su número correspondiente, deben escribirse a máquina, reunidas en una o más hojas agregadas al final del original del manuscrito.

Pruebas tipográficas

Si lo solicitan expresamente, los autores que lo deseen pueden recibir pruebas de galera o de planas para su revisión, siempre que ello no signifique un retraso considerable en la publicación.

Sobretiros

Una vez que el Consejo Editorial haya comunicado por escrito al autor la aceptación de su trabajo, el interesado deberá solicitar el número de sobretiros que desee. Una tabla referente a su costo acompañará a la notificación del Editor.

Los manuscritos (original y copia del trabajo) con sus ilustraciones y resúmenes, así como toda la correspondencia, deberán enviarse a

CIENCIA, MEX.
Apartado Postal 32133
México 1, D. F.

CIENCIA, MÉX.
15, Diciembre, 1975
XXIX (3-4) 181-191

Comunicaciones originales

INSULINA Y RECAMBIO DEL FÓSFORO *

FRANCISCO DE VENANZI

Cátedra de Patología General y Fisiopatología
Instituto de Medicina Experimental
Universidad Central de Venezuela **

RESUMEN

Se presenta una revisión sobre el papel de la insulina en el recambio del fósforo. La primera parte de la misma se refiere al efecto hipofosfatémico de la hormona, incluyendo los factores facilitadores o inhibidores que pueden tener influencia sobre este fenómeno. La segunda parte se refiere al destino del fósforo que sale del plasma bajo la acción de la insulina; los estudios de la distribución en los órganos de la rata, muestran que la hormona promueve la incorporación de fósforo al hígado, corazón y diafragma, pero si se administra la insulina, aún en dosis doble, con glucosa, a fin de evitar la hipoglucemia y la consiguiente acción de las hormonas de contrarregulación, desaparece el citado efecto sobre el hígado, pero persiste a nivel del corazón y el diafragma; en el músculo esquelético hay un discreto aumento de incorporación que no llega a ser significativo desde el punto de vista estadístico; el glucagon aumenta la incorporación de fósforo en el hígado y el corazón de la rata normal, pero si se usan ratas aloxanizadas, sólo persiste el efecto sobre el hígado. En el hígado perfundido de la rata alimentada *ad libitum*, la insulina no promueve la incorporación de Pi, pero reduce la salida del mismo; en cambio, el glucagon, la epinefrina, y el 3'5' cAMP aumentan la incorporación de Pi al hígado. En la tercera parte, se estudia el efecto de la insulina sobre los nucleótidos libres. En la cuarta parte, se revisan los conocimientos sobre el efecto de la insulina y la deficiencia de la hormona sobre la fosforilación oxidativa y la función y estructura mitocondriales. Por último, se hace un recuento de las relaciones de la insulina con el sistema de la adenil-ciclasa.

SUMMARY

The effect of insulin on phosphorus metabolism is reviewed. In the first part, the data pertaining to the hypophosphatemic action of insulin are considered, including the facilitatory and inhibitory factors that may modify this phenomenon. In the second part the knowledge related to the organ distribution of the orthophosphate leaving the plasma under the effect of insulin is presented; insulin promotes the incorporation of Pi into the liver, heart and diaphragm, but when insulin is given with glucose in order to avoid the lowering of the blood sugar and the secretion of contraregulatory hormones, the effect on the liver dissapears skeletal muscle may also contribute to the hypophosphatemic response (non significant tendency); glucagon increase the incorporation of Pi into the liver and into the heart in the normal rat, but if alloxanized rats are employed, the heart effect does not take place. In the perfused rat liver, insulin does not increase the incorporation of Pi, but reduces the efflux of the same; at the contrary, glucagon, epinephrine, 3'5' cAMP are able to increase the uptake of Pi. In the third part, the effect of insulin on free nucleotides is considered and in the fourth part the experimental work related to the effect of insulin deficiency and insulin on oxidative phosphorylation and mitochondrial functions and structure is presented. Finally, the interaction of insulin with the cyclic adenylate system is reviewed.

En esta revisión se trata de condensar los conocimientos pertinentes a la acción de la insulina y la deficiencia de la hormona sobre el recambio del fósforo, incluyendo su participación en la homeostasis del fósforo inorgánico plasmático, la distribución del elemento de los diferentes órganos, su incorporación a través de los procesos fosforilativos a diferentes compuestos químicos de interés metabólico y la influencia de la hormona sobre algunas substancias fosfo-

* Trabajo realizado con el patrocinio del Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad Central de Venezuela y del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de Venezuela.
** Apartado Postal 50587, Sabana Grande.

radas que juegan un papel importante en el metabolismo. No serán considerados los efectos relacionados con la síntesis de proteínas, o los aspectos enzimáticos vinculados con el fósforo en los cuales la insulina puede actuar.

1. Homeostasis del fósforo inorgánico plasmático

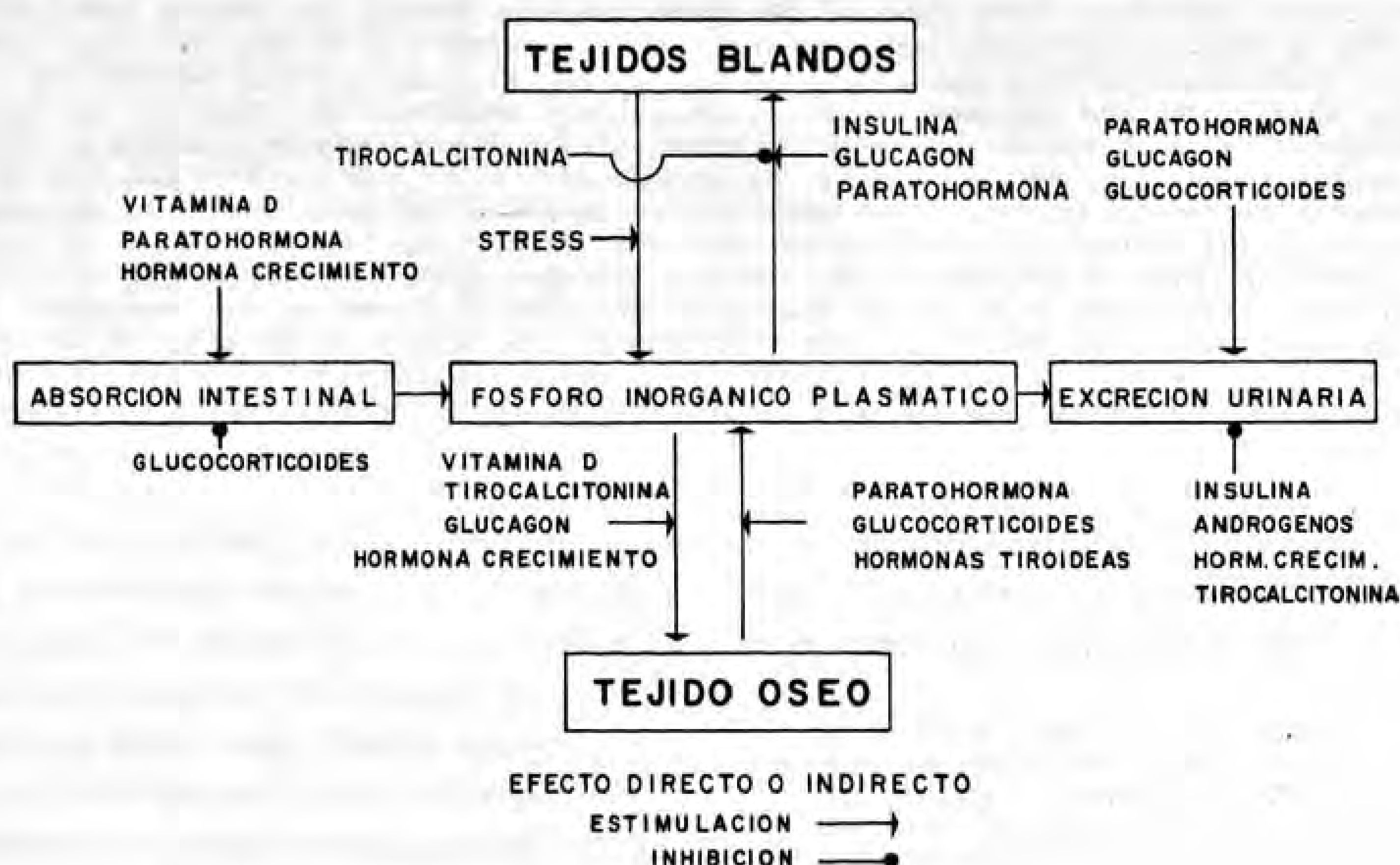
En el Esquema 1 se puede apreciar la complejidad de la regulación de los niveles plasmáticos del fósforo inorgánico. Al respecto deseamos puntualizar el conocimiento relativamente escaso de los intercambios del fósforo plasmático con los tejidos blandos, en los cuales decenas de substancias fosforadas participan en los más diversos procesos metabólicos. Nuestro campo de trabajo ha estado vinculado especialmente a las acciones de la insulina, glucagon, epinefrina y cAMP en estos procesos.

El interés por la acción de la insulina sobre el fósforo plasmático se remonta a la etapa del descubrimiento de la hormona, cuando comenzaron a explorarse con gran tesón sus diversas acciones metabólicas. Wigglesworth y col.[1] en 1922, reportaron el descenso del fosfato sanguíneo en conejos a los cuales se provocó convulsiones insulínicas y muchos otros trabajos siguieron a este informe inicial[2-7] incluyendo el de los argentinos Savinos[8] y Mazzoco y Morera.[9] Harrop y Benedict[3,4] y Perlzweig y col.[10] mostraron que la administración oral de glucosa en sujetos normales produce descenso del fósforo inorgánico del suero. Estos últimos autores[10] señalaron, además, ausencia del fenómeno en pacientes diabéticos.

Bolliger y Hartman[11] realizaron en 1925 una serie de experimentos muy demostrativos, en los cuales comprobaron el efecto de la glucosa y la insulina sobre el descenso del Pi del suero y mostraron que, en el perro pancreatectomizado, se hacía defectuoso o nulo el descenso inducido por la glucosa; señalaron, además, el efecto hiperfosfatémico de la pituitrina y comprobaron el efecto depresor sobre el Pi sérico determinado por la epinefrina, que había sido citado antes;[10] esta última hormona no actúa en el perro pancreatectomizado;[11] pudimos comprobar este hallazgo y mostrar que tampoco ejerce efecto hipofosfatémico en perros aloxanizados.[12] Experimentos llevados a cabo con doble administración de glucosa, sugirieron que el descenso del Pi sérico después de la inyección de glucosa dependía de una descarga de insulina.[13,14] Muy pronto después del aislamiento y cristalización del glucagon se observó que esta hormona tenía efecto hipofosfatémico.[15] Demostramos en pacientes diabéticos y perros pancreatectomizados y aloxanizados que este efecto era propio e independiente de la secreción reaccional de insulina. Rasmussen y col.[18] y Wells y Lloyd[19] observaron que la inyección endovenosa de dB-cAMP producía hipofosfatemia y

Esquema 1

PRINCIPALES FACTORES REGULADORES EN LA HOMEOSTASIS DEL FOSFORO INORGANICO PLASMATICO



Esquema 2

FACTORES PRINCIPALES CAPACES DE INDUCIR UNA RESPUESTA HIPOFOSFATEMICA RAPIDA

INSULINA	GLUCOSA	GLUCAGON	TIROCALCITONINA
	SORBITOL	EPINEFRINA	CALCIO
	SORBOSA	cAMP 3'5'	
	FRUCTOSA?	dB-cAMP 3'5'	
	2-DEOXIGLUCOSA	TEOFILINA	
	ALCOHOL	IMIDAZOL	
	DIHIDROXIACETONA		
	GLUTATION		

aumento del calcio del plasma en ratas. Efectos similares fueron reportados en humanos,[20] lo que se ha interpretado como un efecto mimético de la hormona paratiroidea que actuaría por liberación de cAMP en el tejido óseo.

En el esquema 2 se suministra una lista de las substancias principales capaces de inducir rápida hipofosfatemia,[3,4,10,11,15-17,21-24,26-31] algunas de ellas mediadas por secreción de insulina como los efectos de la glucosa y la epinefrina.[11,12,14]

El efecto de la 2-deoxi-D-glucosa sobre el Pi merece ser destacado por la magnitud que alcanza la respuesta. Como es bien conocido, se trata de un bloqueador metabólico que determina glucocitopenia por interferencia con la utilización de la glucosa y, como consecuencia, se desencadena una serie de reacciones que persiguen la compensación del fenómeno, siendo característica una marcada hiperglucemia, que ha sido atribuida esencialmente a una descarga de catecolaminas por las suprarrenales. Usando una dosis de 1 ml/Kg de sol. 1.5 M de 2-DG por vía endovenosa en el perro, se obtiene un descenso del Pi plasmático dos veces mayor que el determinado por glucosa 3 M, 1 ml/Kg de peso corporal. La adrenalectomía y el pretratamiento con dihidroergotamina reducen apreciablemente la respuesta hiperglucemiante, en tanto que el descenso del fósforo en ambos casos se acentúa. En perros pancreatectomizados o aloxanizados, inyectados con 2-DG, el descenso del fósforo se reduce a cerca de la mitad del encontrado en perros normales, lo que iría en

Esquema 3

FACTORES MODIFICADORES DE LA ACCION HIPOFOSFATEMICA DE LA INSULINA O LA GLUCOSA

FACTORES INHIBIDORES	FACTORES FACILITADORES
EMBARAZO PUERPERIO SENECTUD	HIPOFISECTOMIA
DIABETES ACROMEGALIA BASOFILISMO HIPOFISARIO BASOFILISMO PROGRESIVA ACTH ? GLUCORTICOIDES PITUITRINA DISTROFIA MUSCULAR HIPOFISARIO STRESS ANESTESIA FIEBRE HIPERTENSION ESENCIAL HEMOCROMATOSIS	ADRENALECTOMIA PARATIROIDECTOMIA ? INSUFICIENCIA HEPATICA

favor de una participación de la insulina en este descenso.[23] En otra serie de experimentos realizados en perros normales se pudo mostrar que la 2-DG, usada en la forma descrita, eleva los niveles de insulina inmuno-reactiva del plasma; por otra parte, se hicieron observaciones en perros diabéticos, con la glucemia previamente normalizada con inyección de insulina de acción retardada, y se observó que persiste el defecto del fósforo. En los perros aloxanizados, la elevación de la glucemia por administración de 2-DG fue mayor que en los pancreatectomizados, lo que sugiere la posibilidad de que pueda haber cierta participación del glucagon.[24] Es probable que en los perros adrenalectomizados o pretratados con dihidroergotamina, el mayor descenso del Pi pueda estar relacionado con una mayor producción de glucagon. Ha sido reportado que la administración de 2-DG eleva los niveles de glucagon en el plasma.[25]

En el esquema 3 se anotan una serie de factores que pueden intensificar o inhibir las respuestas hipofosfatémicas inducidas por la administración de glucosa o insulina. En muchos casos, el mecanismo del antagonismo no ha sido precisado; pero, indudablemente, puede tener bastante interés por su posible vinculación con los factores patogénicos de la diabetes. En el embarazo hemos observado una disminución de la tolerancia glucosada y del descenso del Pi del suero y hay resistencia a la acción de la insulina sobre la glucemia y el Pi del suero.[32] Burt comprobó nuestros resultados con respecto a los cambios glucémicos y del Pi del plasma determinados por glucosa en el embarazo y el puerperio;[33] en mujeres preeclámpticas disminuye más la tolerancia glucosada, pero el descenso del fósforo plasmático es similar al de las embarazadas no complicadas.[34] En relación con este fenómeno es interesante anotar que se ha mostrado elevación de los niveles de insulina plasmática durante el embarazo,[35-38, etc.] y se han postulado varias hipótesis con respecto a la naturaleza de la insulino-resistencia.[38] Jacir [39] ha hecho observaciones mostrando que la disminución de la tolerancia glucosada, común en el anciano, se acompaña de defecto de descenso del Pi plasmático.

De Venanzi y col.[40] señalaron que en los pacientes diabéticos existe una resistencia a la acción de la insulina sobre el Pi, contrastando con mayor sensibilidad de la glucemia; este fenómeno se presentaba por igual en diabéticos que mostraban descenso del Pi del suero después de administrar glucosa y los que no lo presentaban. En otra serie de experimentos realizados con perros normales, aloxanizados y pancreatectomizados,[41] se pudo notar que, prácticamente, eran iguales las respuestas del fósforo a la inyección de insulina en los tres grupos experimentales; la respuesta hipoglucemiante fue siempre bastante mayor en los perros diabéticos; esto plantea una diferencia interesante entre pacientes con diabetes y perros con deficiencia insulínica experimental.

La acromegalia,[42] basofilismo hipofisario,[43] la distrofia muscular progresiva,[44] anestesia,[45] hipertensión esencial,[46] stress y fiebre,[47] hemocromatosis [48] y hormonas del lóbulo posterior de la hipófisis,[11,27] reducen el descenso del Pi sérico determinado por la glucosa. La situación con respecto a los glucocorticoides y la hormona corticotrópica es un tanto contradictoria. En un trabajo realizado en perros, encontramos que, después de administrar ACTH durante varios días y suspender la hormona, había reducción del descenso del Pi sérico inducido por glucosa o por glucosa más insulina.[49,50] Con la administración aguda endovenosa de la misma hormona se ha citado reducción del descenso del Pi del suero provocado por la insulina.[51] Forsham y Thorn [49] trataron un paciente con administración contínua de ACTH durante 48 horas y, a pesar de reducirse la tolerancia glucosada, no hubo modificaciones del descenso del Pi sérico. La administración aguda de glucocorticoides no produjo reducción del descenso del Pi después de administrar glucosa.[52,53] Recientemente, Madar y Pora [54] realizaron un estudio donde anotaron que la administración de hidrocortisona hemisuccinato por vía venosa en ratas, simultáneamente con glucosa y ortofosfato radiactivo, reduce el descenso del Pi de la sangre y retarda la desaparición del fósforo radiactivo del torrente circulatorio, al comparar los datos obtenidos en ratas controles sometidas al mismo procedimiento, pero sin administración de glucocorticoides. Es muy probable que factores de dosis y duración del tratamiento tengan importancia en cuanto a las divergencias señaladas.

Varias condiciones clínicas o experimentales tienden a incrementar la respuesta del fósforo a la glucosa o la insulina: Chaikoff y col.[55] citaron un incremento de la sensibilidad a la insulina, en relación con el fenómeno, en perros hipofisectomizados. Con respecto a las suprarrenales, se ha mostrado que estas glándulas no son indispensables para que el descenso del Pi sérico tenga lugar después de administrar gluco-

sa o insulina[56] y, además, se ha mencionado una mayor acción de la insulina en perros adrenalectomizados;[57] la paratiroidectomía no produce alteraciones de la respuesta hipofosfatémica a la glucosa o la insulina o tiende a aumentarla;[58-61] al respecto, es interesante citar que en pacientes con hiperparatiroidismo o normales tratados con hormona paratiroidea, se ha notado una respuesta hiperinsulinémica aumentada después de administrar glucosa, glucagon o tolbutamida.[62] Se ha anotado, además, que en el hiperparatiroidismo se registra con frecuencia disminución de la tolerancia glucosada,[63,64] y en pacientes con este trastorno se ha encontrado hiperplasia de las células alfa de los islotes pancreáticos.[65] En relación al metabolismo fosfo-cálcico, es de interés señalar el hallazgo de que la tirocalcitonina, que produce descenso del Ca y del P plasmáticos, reduce la tolerancia glucosada y la producción de insulina en humanos;[66] se ha mencionado también que esta hormona reduce la utilización de glucosa por el diafragma aislado de la rata.[67] En el hígado perfundido de la rata, la tirocalcitonina tiende a reducir la liberación de glucosa y en los hígados de ratas en ayunas, aminora la incorporación de fósforo radiactivo.[68] Se ha demostrado que el glucagon es capaz de aumentar la producción de tirocalcitonina.[69]

En la insuficiencia hepática, Forsham y Thorn[48] encontraron que se acentuaba el descenso del Pi del suero determinado por la glucosa y lo atribuyeron a un efecto de mayor llegada de glucosa a los tejidos periféricos, por defecto de retención a nivel del hígado. Smith y col.[22] hicieron observaciones similares en pacientes con cirrosis o hepatitis.

2. Participación de diversos órganos en la incorporación del fósforo inorgánico movilizado desde el plasma hacia los tejidos por acción de la insulina

Soskin y col. sugirieron que el fósforo inorgánico que desaparecía del plasma no se movilizaba hacia los tejidos, si no que se esterificaba en la misma sangre.[56] Wigglesworth y col.[1] hicieron notar, desde su trabajo inicial, que los métodos de estudio no permitían comparar con precisión los cambios del fósforo total ácido-soluble con los del Pi. Pudimos comprobar esta objeción.[70] Weissberger, empleando fósforo radiactivo, demostró fehacientemente la salida del isótopo del plasma bajo el efecto de la insulina y la epinefrina.[71] Hemos realizado una serie de experimentos determinando la distribución por órganos del ^{32}P-ortofosfato, libre de trasportador, inyectado por vía venosa en la rata, determinado el porcentaje acumulado en cada uno de ellos, números de cuentas por min., por g de tejido seco y por mg de fósforo total determinado por incineración (actividad específica).[72-74] La insulina promovió una mayor incorporación de fósforo radiactivo al diafragma, corazón e hígado; duplicando la dosis de insulina y administrando al mismo tiempo glucosa para evitar la acción de hormonas de contrarregulación, se observó que el aumento de radiactividad se encontraba significativamente aumentado sólo en diafragma y corazón. En ratas normales inyectadas con 2-DG se observó distribución similar a la determinada por la insulina más glucosa.[74] Con insulina más glucosa disminuyen la actividad específica y las cuentas por g de tejido seco en el hueso y tiende a aumentar (no significativo) el contenido en músculos esqueléticos; el cuerpo despojado de casi todos los órganos (prácticamente esqueleto y musculatura esquelética) registró un aumento no significativo en el porcentaje de fósforo radiactivo.[72,73] En las mismas condiciones experimentales, el glucagon promueve la incorporación de ortofosfato radiactivo al hígado, al corazón y la piel; pero, si se realizan los experimentos en ratas aloxanizadas, el efecto se limita al hígado; hay descenso de la radiactividad en tejido óseo, grasa epididimaria, encéfalo y cuerpo privado de órganos, en la rata normal inyectada con glucagon. En la rata aloxanizada, el glucagon determinó descenso en el hueso y descenso no significativo en cuerpo privado de órganos.[72,73] La epinefrina produjo aumentos significativos en el porcentaje de distribución en diafragma, corazón y pulmón, disminución en hueso, bazo, intestino delgado y grasa epididimaria.[73]

Los estudios de Koike y col.[75] revelaron que en la rata diabética, la insulina promueve la transferencia de fósforo desde el plasma a todos los órganos, menos a los testículos. En ratas con diabetes aloxánica, señalamos que se producía una reducción significativa de la cantidad total de fósforo en el hígado y el cuerpo (prácticamente esqueleto y musculatura), que podía atribuirse a disminución en los músculos, ya que se notó un aumento significativo de la acumulación de ortofosfato radiactivo en el hueso en los estudios de distribución; los controles para estos experimentos fueron ratas con alimentación restringida, de tal manera que se pudieran lograr curvas de disminución de peso similares

a las encontradas en las ratas diabéticas.[76] Goodman y Hazelwood[77] encontraron un descenso del fósforo total del corazón en ratas aloxanizadas, comparadas con normales o con ratas sometidas a ayuno.

Kaji y Park[78] hicieron observaciones en corazón perfundido de la rata y señalaron que hay una incorporación de fósforo en los primeros 15 min., seguida luego de liberación del elemento; la insulina reduce la liberación de fosfato y, en presencia de glucosa, el efecto es más pronunciado. Sarkar y Ottaway,[79] también en corazón de rata perfundido, encuentran que no hay diferencia significativa entre la incorporación espontánea de Pi y la que tiene lugar después de añadir insulina; en cambio, consideran que la hormona reduce la salida de fosfato a partir del corazón.

Kestens y col.,[80] utilizando el hígado perfundido del perro, encontraron que la insulina disminuía los niveles de fosfato y potasio del plasma y atribuyeron este fenómeno a una mayor incorporación al hígado. No obstante, no descartaron la posible participación de los elementos formes de la sangre. Esto puede tener interés, ya que Dormandy[81] ha señalado que la insulina promueve la incorporación de ^{32}P-ortofosfato a los glóbulos rojos, con una liberación inicial y transitoria de fosfato, lo que indica que los hematíes no pueden tomarse como inertes en el sistema de perfusión. Jefferson y col.[82] han encontrado que el hígado perfundido de la rata libera fósforo espontáneamente y que esta liberación puede ser inhibida parcialmente por la insulina. En nuestros experimentos hemos comprobado este hallazgo,[69] observando la penetración de ortofosfato radiactivo al hígado y los cambios del Pi del perfusado, así como la actividad específica del mismo. Se nota que la insulina no aumenta la incorporación de ^{32}P-ortofosfato al hígado, reduce la liberación de fosfato y eleva moderadamente la actividad específica del Pi, lo que sugiere que su efecto se limita a reducir la salida de fosfato del órgano. En cambio, el glucagon, la adrenalina, el cAMP y el dB-cAMP, inducen penetración de ortofosfato al hígado.[69] Añadiendo glucagon al sistema de perfusión, en ausencia del hígado se encontró una pequeña reducción de la incorporación de fósforo a los glóbulos rojos, en tanto que con la insulina hubo un discreto aumento, no significativo.[69]

3. Efecto de la insulina sobre nucleótidos libres

Desde hace tiempo se ha mencionado que la insulina aumenta el recambio del ATP y de la fosfocreatina en el músculo.[83,84] En diafragmas aislados de ratas se ha encontrado aumento de la incorporación de ^{32}P a la fosfocreatina, ATP, ADP y uridina y guanosina fosfatos.[85,86] En otro trabajo se anota un efecto similar con respecto a ATP y GTP y menor en ADP, atribuido en general a facilitación de la penetración del P^{32} a la célula.[87] En células adiposas aisladas, la insulina promueve la penetración del P^{32} y el marcado del ATP y ADP.[88] También en adipocitos aislados se ha observado que la disminución de ATP, inducida por oligomicina o agentes lipolíticos, como adrenalina o cafeína, puede ser contrarrestada por la insulina.[89]

En ratas aloxanizadas se ha encontrado disminución de ATP y aumento de AMP en el hígado, que se corrige con insulina.[90] Disminución de síntesis de ATP ha sido también reportada en el hígado de la rata aloxanizada.[91] En ratas con diabetes aguda inducida por aloxana, o crónicas por estreptozotocina, se registró disminución del contenido de ATP del corazón perfundido, así como de fosfocreatina y cantidad total de nucleótidos; cambios similares se encontraron aumentando el trabajo miocárdico en corazón perfundido de rata normal.[92]

4. Fosforilación oxidativa y funciones mitocondriales

Haugaard y col.[93] realizaron estudios en diafragma de rata aislado, en los cuales señalan que, en presencia de glucosa, la insulina produce un aumento de los procesos fosforilativos. Estas observaciones fueron tomadas por Stadie[94] como indicativas de que la insulina podía aumentar la eficacia de la fosforilación oxidativa. Se han publicado varios estudios, realizados *in vivo* o con extractos de tejidos, en diabetes y observando el efecto de la insulina.[95-98] Luego se ha puesto énfasis especial en las investigaciones sobre mitocondrias aisladas. En este particular, se han producido trabajos contradictorios. Parks y col.[99] no encuentran modificaciones en la capacidad para la fosforilación oxidativa en mitocondrias de hígado de ratas diabéticas. En cambio, Vester y Stadie,[100] utilizando mitocondrias de hígado de gatos pancreatectomizados, encuentran disminución de la producción de ATP, del consumo de O_2 y de la relación

P:O; modificaciones que se corregían si los animales eran tratados con insulina. Resultados similares fueron encontrados por Hall y col.,[101] quienes trabajaron con gatos pancreatectomizados y ratas aloxanizadas, y por Matsubata y Tochino, en mitocondrias de hígado de ratas diabéticas.[102] Dow [103] no encuentra cambios significativos en la fosforilación oxidativa de mitocondrias de hígado o músculo. Beyer y Shamoian [104] y Boveris y col.[105] no encuentran modificaciones de la fosforilación oxidativa de las mitocondrias hepáticas de ratas diabéticas; estos últimos atribuyen los cambios reportados por otros autores al posible efecto directo de la aloxana y, por otra parte, anotan un aumento del contenido en ubiquinona, en contraposición de los resultados de Shigeta y col.,[106] quienes encuentran una disminución de esta substancia. Harano y col.[107] han hecho un detallado estudio bioquímico y morfológico de las mitocondrias de hígados de ratas aloxanizadas y concluyen que la diabetes origina cambios ultraestructurales importantes de las mismas y sólo se producen trastornos de la fosforilación oxidativa cuando la diabetes está descompensada y hay cetosis; atribuyen a este hecho las discrepancias puestas col.[108] concluyen que las lesiones de los mecanismos liberadores y conservadores de energía en las mitocondrias musculares en el estado diabético, no dependen de la misma enfermedad, sino de los trastornos degenerativos secundarios que acompañan al proceso no tratado. Es interesante señalar que Roldán y col.[109] han reportado que las mitocondrias hepáticas de ratas diabéticas por pancreatectomía presentan disminución de la actividad de la 3-hidroxibutirato deshidrogenasa.

5. Insulina y sistema de la adenil-ciclasa

Burton e Ishida [110] demostraron en el hígado perfundido de la rata que la insulina disminuía la liberación de glucosa, lo que atribuyeron a una menor desintegración del glucógeno; también anotaron aumento de la incorporación de potasio al órgano bajo la acción de la hormona. Glinsmann y Mortimore [111] mostraron, en una preparación similar, que la insulina reducía la liberación de glucosa y la incorporación de lactato al hígado, evocadas por estimulación submáxima con glucagon o cAMP; la hormona también redujo la producción de urea y liberación de potasio, espontáneas o estimuladas con glucagon o cAMP. En otras investigaciones [82] se anotó que el hígado perfundido, obtenido de ratas tratadas *in vivo* con suero anti-insulínico, presentaba aumento de la glucogenólisis, neoglucogénesis endógena, la producción de urea y potasio; al mismo tiempo, se aumentaban las concentraciones de cAMP en el órgano; la insulina antagonizaba esos procesos. En el mismo trabajo se observó que la diabetes aloxánica aumentaba los niveles del cAMP; también que la insulina antagonizaba los efectos de la epinefrina y el glucagon sobre la liberación de glucosa y, en el caso de este último, que se reducía el nivel tisular de cAMP. Menahan y Wieland,[112] en hígados perfundidos de ratas, en ayunas por 48 horas, sin substrato, observaron que la insulina antagonizaba la producción de glucosa por neoglucogénesis endógena, la producción de urea y cuerpos cetónicos. Mackrell y Sokal,[113] anotaron que el antagonismo entre insulina y glucagon en el hígado de rata perfundido se hacía patente en la activación de la fosforilasa, glucogenólisis, liberación de glucosa y producción de urea, y que dichos fenómenos no se inhibían en forma pareja, lo cual les hace dudar que el fenómeno dependa de un centro común de acción. La insulina previene también la proteolisis del hígado perfundido.[114] En el tejido adiposo, Jungas observó una inhibición de la formación de cAMP, como resultado del tratamiento con insulina;[115] no obstante, han surgido dudas con respecto al efecto de la insulina *in vitro* sobre adenilciclasa obtenida de tejido adiposo.[116,117, etc.] En fracciones particuladas de hígado Hepp [118] ha demostrado la acción inhibidora de la insulina sobre la adenilciclasa estimulada por el glucagon. Williams y col.,[119] en el hígado perfundido de rata, hicieron la observación de que la insulina no antagoniza la acción del dB-cAMP sobre la liberación de glucosa y la retención de potasio. Observaciones similares con respecto a gluconeogénesis, formación de urea y cetogénesis han sido reportadas.[112]

Park y col.[120,121] condensaron una serie de estudios sobre las relaciones de la insulina con el sistema de la adenilciclasa.

Es de interés hacer algunos comentarios sobre el posible sitio de acción de la insulina. El receptor a nivel de la membrana podría estar implicado. Ileano y Cuatrecasas [122] han mostrado el efecto inhibitorio de la insulina en preparaciones parcialmente purificadas de membrana de células hepáticas y encuentran que dosis elevadas de insulina no tienen la acción citada, lo que explicaría algunas observaciones negativas de Pohl y col.[123] Se ha postulado que la insulina podría actuar directamente sobre la adenilcicla-

sa;[124,112] otros autores han admitido la teoría de que el efecto se ejercería activando la fosfodiesterasa,[125,126] pero esta sugestión ha sido rebatida.[127] Existe también la posibilidad de que la insulina disminuya la síntesis de cAMP, activando una ATPasa a nivel de la membrana y disminuyendo así el substrato para la acción de la adenil-ciclasa; algunos estudios recientes de Luly y col.[128] y Hadden y col.[129] apuntan a que esta posibilidad pueda llegar a materializarse.

El hecho mencionado de que la insulina pueda antagonizar la acción del cAMP y no la del dB-cAMP, propicia la tesis de que el efecto de la hormona sea post-adenilciclásico.

En relación con el fenómeno que hemos descrito, de un incremento de la incorporación de ortofosfato al hígado bajo la acción del glucagon, llevamos a cabo experimentos para determinar si la insulina era capaz de antagonizarlo. Se emplearon concentraciones de insulina y de glucagon muy similares a las citadas por Exton y col.,[120] que podían evidenciar con toda claridad, en el hígado perfundido de rata alimentada, la inhibición de la liberación de glucosa. Se pudo observar que, efectivamente, se inhibe la liberación de glucosa en estas condiciones; pero, la incorporación de fósforo radiactivo al hígado, lejos de reducirse, se aumenta en forma significativa; lo mismo ocurre con el descenso del Pi del perfusado: la actividad específica del Pi no fue significativamente diferente de la encontrada con la administración de glucagon sólo.[68] Estas investigaciones sugieren que a nivel del recambio de fósforo hígado-plasma, la insulina y el glucagon no muestran efecto antagónico.

Referencias

1. Wigglesworth, V. B., C. E., Woodrow, W. Smith y L. B. Winter, Effect of insulin on blood phosphate. *J. Physiol.* (London) **57**: 447-450, 1922.
2. Winter, L. B. y W. Smith, On the blood phosphate after insulin convulsions. *J. Physiol.* (London) **58**: 327-333, 1924.
3. Harrop, G. A. Jr. y E. M. Benedict, The role of phosphate and potassium in carbohydrate metabolism following insulin administration. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **20**: 430-431, 1922-1923.
4. Harrop, G. H. y E. M. Benedict, The participation of inorganic substances in carbohydrate metabolism. *J. Biol. Chem.* **59**: 683-697, 1924.
5. Briggs, A. P., I. Koechig, E. A. Doisy y C. J. Weber, Some changes in the composition of blood due to the injection of insulin. *J. Biol. Chem.* **58**: 721-730, 1923-1924.
6. Blatherwick, N. R., M. Bell y E. Hill., Some effects of insulin on the carbohydrate and phosphorus metabolism of normal individuals. *J. Biol. Chem.* **61**: 241-259, 1924.
7. Eadie, G. S., J. J. R. Macleod y E. C. Noble, Further experiments on the action of insulin. *Am. J. Physiol.* **78**: 614-628, 1925.
8. Savino, E., Action de l'insuline sur le phosphore du sang. *Compt. Rend. Soc. Biol.* **91**: 29, 1924.
9. Mazzocco, P. y V. Morera, Action de l'insuline sur la composition du sang. *Compt. Rend. Soc. Biol.* **91**: 30, 1924.
10. Perlzweig, W. A., E. Latham y C. S. Keefer, The behavior of inorganic phosphate in the blood and urine in normal and diabetic subjects during carbohydrate metabolism. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **21**: 33-34, 1923.
11. Bolliger, A. y F. W. Hartman, Observations on blood phosphates as related to carbohydrate metabolism. *J. Biol. Chem.* **64**: 91-109, 1925.
12. De Venanzi, F. T. Carnevali y F. Peña, Observations on the effect of epinephrine on plasma inorganic phosphorus and blood sugar. *Acta Physiol. Latinoamer.* **15**: 266-273, 1965.
13. De Venanzi, F. y A. Podrizki, El fósforo inorgánico del suero y el efecto Satub. *Rev. Soc. Arg. Biol.* **25**: 112-129, 1949.
14. De Venanzi, F., Investigaciones sobre el fósforo inorgánico del suero después de la administración de glucosa en perros con diabetes aloxánica. *Rev. Soc. Arg. Biol.* **25**: 120-129, 1949.
15. Kirtley, W. R., S. O. Waife y F. B. Peck, Effect of glucagon in stable and unstable diabetic patients, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **83**: 387-389, 1953.
16. De Venanzi, F., Comparison between changes in serum inorganic phosphorus induced by glucose and glucagon in diabetics. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **90**: 112-115, 1955.
17. De Venanzi, F., T. Carnevali y F. Peña, Effect of glucagon on the serum inorganic phosphorus of normal and diabetic dogs. *Acta Physiol. Latinoamer.* **11**: 184-189, 1961.
18. Rasmussen, H., M. M. Pechet y D. Fast, Effect of dibutyril cyclic adenosine 3'5' monophosphate, theophylline, and other nucleotides upon calcium and phosphate metabolism. *J. Clin. Invest.* **47**: 1843-1850, 1968.
19. Wells, H. y W. Lloyd, Hypercalcemic and hypophosphatemic effects of dibutyril cyclic AMP in rats after parathyroidectomy. *Endocrinology* **84**: 861-867, 1969.
20. Bell, N. H., S. Avery, T. Sinha, C. M. Clark, Jr., D. O. Allen y C. Johnston, Jr., Effect of dibutyril cyclic adenosine 3'5 monophosphate and parathyroid extract on calcium and phosphorus metabolism in hypoparathyroidism and pseudohypoparathyroidism. *J. Clin. Invest.*, **51**: 816-823, 1972.
21. De Venanzi, F., Effect of some monosaccharides on serum inorganic phosphate in the normal dog. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **96**: 530-532, 1957.
22. Smith, L. H., R. H., Ettinger y D. Seligson, A comparison of the metabolism of fructose and glucose in hepatic disease and diabetes mellitus. *J. Clin. Invest.*, **32**: 273-281, 1953.
23. De Venanzi, F., F. Peña, y T. Carnevali, Observations on the effect of 2-deoxy-glucose on plasma inorganic phosphorus and blood glucose. *Acta Physiol. Latinoamer.*, **18**: 203-213, 1968.
24. De Venanzi, F., E. Coll-García y F. Peña, Insulin participation in the plasma inorganic phospho-

rus decrease induced by 2-deoxy-D-glucose. *Acta Physiol. Latinoamer.*, **20**: 110-121, 1970.

25. MULLER, W. A., G. R. FALOONA y R. H. UNGER, The effect of experimental insulin deficiency on glucagon secretion. *J. Clin. Invest.*, **50**: 1992, 1971.
26. STEIN, J. H., W. D. SMITH y H. E. GINN, Hypophosphatemia in acute alcoholism. *Am. J. Med. Sci.* **552**: 113-117, 1966.
27. LAMBIE, CH. G. y F. A. REDHEAD, LXX. Studies in carbohydrate metabolism. VI. The antagonistic action of pituitrin and adrenalin with special reference to the gaseous exchange, the inorganic blood phosphate and the blood sugar. *Biochem. J.*, **23**: 608-623, 1929.
28. HENNEMAN, D. H., M. D. ALTSHULE y R. M. GONCZ., Effect of intravenous administration of glutathione in man on blood glucose, some other blood carbohydrates and serum inorganic phosphorus. *Metabolism*, **4**: 433-445, 1955.
29. BIRD, P. C., G. M. A. PALMIERI y L. P. E. RIEL, Modification by cortisone of the plasma Ca and P responses to imidazole and theophylline. *Endocrinology*, **88**: 1267-1271, 1971.
30. HIRSH, P. F., E. F. VOELKEL y P. L. MUNSON. Thyrocalcitonin hypocalcemic hypophosphatemic principle of thyroid gland. *Science*, **146**: 412-413, 1964.
31. SANDERSON, P. H., F. MARSHALL y R. E. WILSON, Calcium and phosphorus homeostasis in the parathyroidectomized dog: evaluation by means of ethylenediamine tetracetate and calcium tolerance tests. *J. Clin. Invest.*, **39**: 662-670, 1960.
32. DE VENANZI, F., O. AGÜERO y M. ROCHE, Changes in blood sugar and serum inorganic phosphorus after dextrose or insulin administration in pregnancy. *Acta Physiol Latinoamer.*, **4**: 185-189, 1954.
33. BURT, R. L., Peripheral utilization of glucose in pregnancy and the puerperium. *Obst. and Gynecol.*, **4**: 56-66, 1954.
34. BURT, R. L., Peripheral utilization of glucose in pregnancy. II. Preeclampsia. *Obst. and Gynecol.*, **6**: 51-54, 1955.
35. SPELLACY, W. N., F. C. G'OETZ, M. S. GREENBERG y J. ELLIS, Plasma insulin in normal early pregnancy. *Obst. and Gynecol.*, **25**: 862-865, 1965.
36. SPELLACY, W. N., F. C. G'OETZ, M. S. GREENBERG y J. ELLIS, Plasma insulin in normal mid-pregnancy. *Amer. J. Obst. Gynecol.*, **92**: 11-15, 1965.
37. SPELLACY, W. N., F. C. G'OETZ, M. S. GREENBERG y J. ELLIS, Plasma insulin in normal late pregnancy. *New Engl. J. Med.*, **268**: 988-991, 1963.
38. PICARD, C., H. A. DOMS, E. BALASSE y V. CONARD, Effect of normal pregnancy on glucose assimilation, insulin and non-esterified fatty acid levels, *Diabetologia*, **4**: 16-19, 1968.
39. JACIR, S. I. ALFONSO, Tolerancia glucosada en ancianos, con especial referencia a la prueba $\Delta G/\Delta P$. Caracas, 1965, 143. Tesis presentada ante la Universidad Central de Venezuela para optar el título de Doctor en Ciencias Médicas.
40. DE VENANZI, F., M. ROCHE y J. VERA, Response of serum inorganic phosphate to insulin in normal and diabetic subjects. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **87**: 16-19, 1954.
41. DE VENANZI, F., T. CARNEVALI y F. PEÑA, Respuesta del fósforo inorgánico del suero a la insulina en perros normales, pancreatectomizados y aloxanizados. *Acta. Cientif. Venez.*, **17**: 173-176, 1966.
42. SCHILLER, J. y E. A. TYAN, Serum inorganic phosphate response in pituitary disorders. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **14**: 828, 1954.
43. BAZI, V., Il comportamento dei radicali fosforici (fosforo inorgánico acido-solubile e fosforo degli esosofosfati) e della fosfatasi alcalina del siero di sangue in rapporto al metabolismo degli idrati di carbono nelle sindromi hiperpituitarichi. *Policlinico, Sez. Med.* **61**: 61-67, 1954.
44. VAN BERKKUM, D. W. y A. QUERIDO, Inorganic phosphate response to intravenous glucose, administration in progressive muscular dystrophy. *J. Clin. Invest.*, **32**: 1061-1064, 1953.
45. HENNEMAN, D. H. y J. P. BUNKER, Effects of general anesthesia on peripheral blood levels of carbohydrate and fat metabolites and serum inorganic phosphorus. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **133**: 253-261, 1961.
46. WERTHEIM, A. R., G. H. EURMAN y H. J. KALINSKY, Changes in serum inorganic phosphorus during intravenous glucose tolerance tests in patients with primary (esential) hypertension, other disease states and normal man. *J. Clin. Invest.*, **33**: 565-571, 1954.
47. DRUCKER, W. R., M. MILLER, W. E. ABBOTT, J. W. CRAIG, W. MCK LEFFERIES, S. LEVEY y H. WOODWARD, JR., The effect of stress on glucose and fructose metabolism. *J. Lab. Clin. Med.* **40**: 784-794, 1952.
48. FORSHAM, P. H. y G. W. THORN, Changes in inorganic serum phosphorus during the intravenous glucose tolerance test as an adjunct to the diagnosis of early diabetes mellitus. *Proc. Am. Diabetes. Assoc.*, **9**: 101, 1949.
49. DE VENANZI, F., Efecto de la hormona adrenocorticotrófica A. C. T. H., sobre el descenso del fósforo inorgánico provocado por la administración de glucosa, *Acta Cientif. Venez.*, **2**: 40-43, 1951.
50. DE VENANZI, F., Effect of A. C. T. H. on decreased serum inorganic phosphorus induced by insulin and glucose. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **76**: 770-773, 1951.
51. KESSLER, M. F., H. C. KNOWLES y V. M. ESSELBORN, The persistence of insulin sensitivity in acute adenocortical hyperactivity induced by corticotropin in normal man. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **16**: 489-495, 1956.
52. ROCHE, M., Comunicación personal.
53. PERSKY, M., L. LINSK, M. ISAACS, J. P. JENKING, M. ROSENBLUTH y H. KUPPERMAN, Acute effects of intravenous hydrocortisone on glucose and insulin tolerances and levels of serum inorganic phosphorus. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **15**: 1247-1256, 1955.
54. MADAR, J. y E. A. PORA, Effect of hydrocortisone hemisuccinate on the level of blood inorganic phosphorus, on the glucose assimilation coefficient and on the rate of ^{32}P disappearance from tre blood, in white rats. *Ann. Endocrinol.*, **31**: 1081-1086, 1970.
55. CHAIKOFF, I. L., F. L. REICHERT, P. S. LARSON y M. E. MATHES, The effect of hypophysectomy and cerebral manipulations in the dog upon the response of the blood sugar and inorganic phosphorus to insulin. *Am. J. Physiol.*, **112**: 493-503, 1935.
56. SOSKIN, S. R. LEVINE y O. HECHTER, The relation between the phosphate changes in blood and muscle following dextrose, insulin and epinephrine administration. *Am. J. Physiol.*, **134**: 40-46, 1941.
57. ELLSWORTH, R. y A. WEINSTEIN, The effect of insulin injections upon the serum inorganic phosphate in normal and suprarenalectomized dogs. *Johns Hopkins Hosp. Bull.*, **53**: 21-30, 1933.

58. SALVESEN, H., Studies on the physiology of the parathyroids. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **20**: 204-210, 1922-1923.

59. SALVESEN, H., The functions of the parathyroids. *J. Biol. Chem.*, **56**: 443-456, 1923.

60. REED, C. I. Carbohydrate metabolism of parathyroidectomized dogs. *Am. J. Physiol.*, **89**: 230-238, 1929.

61. REED, C. I., The effect of insulin on parathyroidectomized dogs. *Am. J. Physiol.*, **89**: 239-242, 1929.

62. HAKOONG, K. R., K. KALKHOFF, N. V. COSTRINI, J. M. CERLETTY y M. JACOBSON, Plasma insulin disturbances in primary hiperparathyroidism. *J. Clin. Invest.*, **50**: 2596-2609, 1971.

63. DENT, C. E., Some problems of hyperparathyroidism. *Brit. Med. J.*, **2**: 1419-1425, 1962.

64. HALVER, B., Glucose metabolism in parathyroid disease. *Acta Med. Scand.*, **182**: 737-740, 1967.

65. PALOYAN, E., A.M. LAWRENCE, F. H. STRAUS D. PALOYAN, P. V. HARPER y D. CUMMINGS, Alpha cell hyperplasia in calcific pancreatitis associated with hiperparathyroidism. *J. Am. Med. Ass.*, **200**: 757-761, 1967.

66. ZIEGLER, R., S. BELLWINKEL, D. SCHMIDTCHEN y H. MINNE, Effects of hypercalcemia, and calcitonin on glucose stimulated insulin secretion in man. *Horm. Metab. Res.*, **4**: 60, 1972.

67. GOZARIU, L. y O. FLORESCU, Calcitonin and glucose uptake by isolated rat diaphragm. *Horm. Metab. Res.*, **5**: 145, 1973.

68. DE VENANZI, F., F. PEÑA, O. JIMÉNEZ y H. DE BRICEÑO, (Resultados no publicados).

69. AVIOLI, L. V., S. J. BIRGE, S. SCOTT y W. SHIEBER, Role of the thyroid gland during glucagon-induced hypocalcemia in the dog. *Amer. J. Physiol.*, **216**: 939-945, 1969.

70. DE VENANZI, F., El fósforo total ácido-soluble de la sangre después de administrar insulina. *Acta Cientif. Venez.*, **4**: 68-70, 1973.

71. WEISSBERGER, L. H., The influence of insulin and epinephrine upon some phosphorus fractions of the blood. *J. Biol. Chem.*, **160**: 481-487, 1945.

72. DE VENANZI, F., C. DIEZ ALTARES y J. FORERO, Organ distribution of radiactive orthophosphate and total phosphorus in the rat. The influence of glucagon and insulin. *Diabetes*, **13**: 609-614, 1964.

73. DE VENANZI, F., Distribución del fósforo en el organismo bajo la influencia de diversos factores que modifican el metabolismo glucídico. *Acta Cientif. Venez.*, **17**: 38-54, 1966.

74. DE VENANZI, F., L. ORDOÑEZ y O. JIMÉNEZ V., Radiactive orthophosphate organ distribution in the rat under the influence of 2-deoxy-D-glucose. *Acta Physiol. Latinoamer.*, **19**: 330-337, 1969.

75. KOIKE, G., L. C. LAX, J. M. SALTER y G. A. WRENSHALL, Simultaneous rates of phosphorus transfer between sixteen organ-compartments in the alloxan diabetic rat with and without insulin. *Proc. First. Nat. Biophys. Conf.*, 494-509, 1957. Yale University Press. New Haven 1950.

76. DE VENANZI, F. A. GUEVARA DE MURILLO y O. JIMÉNEZ V., Observations on the total organ phosphorus content and radiactive orthophosphate distribution in the alloxanized rat. *Acta. Physiol. Latinoamer.*, **17**: 276-289, 1967.

77. GOODMAN, M. N. y R. L. HAZELWOOD, Influence of fasting and alloxan diabetes on rat cardiac actomyosin and subcellular phosphorus levels. *Proc Soc. exp. Biol. Med.*, **137**: 614-618, 1971.

78. KAJI, H. y C. R. PARK, Stimulation of phosphate uptake by insulin and its relation to sugar transport in the perfused rat heart. *Feder. Proc.*, **20**: 190, 1961.

79. SARKAR, A. K. y J. H. OTTAWAY, Inorganic phosphate metabolism by the perfused rat heart. *Biochem. J.*, **84**: 57, 1962.

80. KESTENS, P. J., J. J. HAXHE, L. LAMBOTTE y C. LAMBOTTE, The effect of insulin on the uptake of potassium and phosphate by the isolated perfused canine liver. *Metabolism*, **12**: 941-950, 1963.

81. DORMANDY, T. L., The mechanism of insulin action: the action of insulin on phosphate turnover in red cell systems. *J. Physiol.*, **180**: 703-721, 1965.

82. JEFFERSON, L. S., J. H. EXTON, R. W. BUTCHER, E. W. SUTHERLAND y C. R. PARK, Role of adenosine 3'5' monophosphate in the effects of insulin and anti-insulin serum on liver metabolism. *J. Biol. Chem.*, **243**: 1031-1038, 1968.

83. SACKS, J., The effect of insulin on phosphorus turnover in muscle. *Amer. J. Physiol.*, **143**: 157-162, 1945.

84. GORANSON, E., J. E. HAMILTON y R. E. HAIST, Changes in phosphate and carbohydrate metabolism in shock. *J. Biol. Chem.*, **174**: 1-9, 1948.

85. VOLFIN, P., D. EBOUÉ y H. CLAUSER, Effect of insulin on the phosphorus-32 monucleotide labelling of the isolated rat diaphragm in the controlled absence of extracellular glucose. *Nature*, **162**: 166-168, 1961.

86. CLAUSER, H., P. VOLFIN y D. EBOUÉ BONIS, Effect of insulin on the phosphorus-32 mononucleotide and phosphocreatine labelling in the isolated diaphragm of the normal, the hypophysectomized and the hypophysectomized growth hormone treated rat. *General and Comparative Endocrinol.*, **2**: 369-384, 1962.

87. WALAAS, O., E. WALAAS y A. N. WICK, The stimulatory effect of insulin on the incorporation of ^{32}P-radioactive inorganic phosphate into intracellular inorganic phosphate, adenine nucleotides and guanine nucleotides of the intact isolated rat diaphragm. *Diabetologia*, **5**: y 79-87, 1969.

88. HEPP, D., D. R. CHALLONER y R. WILLIAMS, Studies on the action of insulin in isolated adipose tissue cells. I. Stimulation of incorporation of ^{32}P labelled inorganic phosphate into mononucleotides in the absence of glucose. *J. Biol. Chem.*, **243**: 4020-4026, 1968.

89. BIHLER, I. y B. JEANRENAUD, ATP content of isolated fat cells. Effects of insulin, ouabain and lipolytic agents. *Biochim. Biophys. Acta.*, **202**: 496-506, 1970.

90. BLAYLOCK, B. A., E. ROTHROCK y J. SACKS, Alloxan diabetes, insulin and adenosine phosphates of liver. *Am. J. Physiol.*, **198**: 1063-1065, 1960.

91. WALDEN G., RAPP. y J. SACKS, Effect of alloxan diabetes on the *de novo* synthesis of the adenosine phosphate of liver. *Arch. Biochem. Biophys.*, **111**: 142-146, 1965.

92. OPIE, L. H., K. R. L. MANSFORD Y P. OWEN, Effects of increased heart work on glycolysis and adenine nucleotides in the perfused heart of normal and diabetic rats. *Biochem. J.*, **124**: 475-490, 1971.

93. HAUGAARD, N., J. B. MARSH y W. C. STADIE, Phos-

phate metabolism of the isolated rat diaphragm. *J. Biol. Chem.*, **189**: 59-63, 1951.

94. STADIE, W. C., Current views on the mechanism of insulin action. *Amer. J. Med.*, **19**: 257-273, 1955.
95. GORANSON, E. S. y S. D. ERULKAR, The effect of insulin on the aerobic phosphorylation of creatine in tissues from alloxan-diabetic rats. *Arch. Biochem.*, **24**: 40, 1949.
96. CHARALAMPOUS, F. C. y D. M. HEGLED, Acetylation in the diabetic rat. *J. Biol. Chem.*, **180**: 623-634, 1949.
97. HAUGAARD, E. S. y N. HAUGAARD, Diabetes metabolism. I. Carbohydrate utilization and high energy phosphate formation in heart homogenates from normal and alloxan diabetic rats. *J. Biol. Chem.*, **239**: 705, 1964.
98. DOW, D. S., Influences of thyroxine and insulin on the turnover and fate of high-energy phosphate. *Canad. J. Biochem.*, **42**: 777-786, 1964.
99. PARKS, R. E. JR., A ADLER y J. H. COPENHAVEN, JR., The efficiency of oxidative phosphorylation in mitochondria from diabetic rats. *J. Biol. Chem.*, **214**: 693, 1955.
100. VESTER, J. W. y W. C. STADIE, Studies of oxidative phosphorylation by hepatic mitochondria from the diabetic cat. *J. Biol. Chem.*, **227**: 669-676, 1957.
101. HALL, J. C., L. A. SORDAHL y P. L. STELKO, The effect of insulin on oxidative phosphorylation in normal and diabetic mitochondria. *J. Biol. Chem.*, **235**: 1536-1539, 1960.
102. MATSUBATA, T. y T. TOCHINO, Depression of respiratory activities in the liver mitochondria of diabetic rats and the restorative action of insulin. *J. Biochem.*, **66**: 397-444, 1969.
103. DOW, D. S., The isolation from thyrotoxic and diabetic rat of skeletal muscle mitochondria showing tight coupling high respiratory indices, and normal adenosine triphosphatase activities. *Biochem.*, **6**: 3350-3355, 1967.
104. BEYER, R. E. y C. A. SHAMOIAN, Oxidative phosphorylation and related reactions in liver mitochondria from diabetic dogs. *Amer. J. Physiol.*, **200**: 838-840, 1961.
105. BOVERIS, A. A., M. CATANEO DE PERALTA RAMOS, A. O. M. STOPPAN y V. G. FOGLIA, Phosphorylation, oxidation and ubiquinone content in diabetic mitochondria. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **132**: 171-174, 1969.
106. SHIGETA, Y., K. ISUMI y M. TANIWA, The role of coenzyme Q on glucose oxidation and lipogenesis of rats in vivo and in vitro. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **25**: 409-414, 1966.
107. HARANO, Y., R. G. DE PALMA, L. LAVINE y M. MILLER, Fatty acid oxidation, oxidative phosphorylation and ultrastructure of mitochondria in the diabetic rat liver. *Diabetes*, **21**: 257-270, 1972.
108. GROSS, M. D., S. HARRIS y R. BEYER, Effect of streptozotocin-induced diabetes on oxidative phosphorylation and related reactions in skeletal muscle mitochondria. *Horm. Metab. Res.*, 1-7, 1972.
109. ROLDAN, A. G., E. J. DEL CASTILLO, A. BOVERIS, A. M. GARASA PEREIRA y A. O. M. STOPPANI, Decreased activity of 3-hydroxybutyrate dehydrogenase in diabetic liver mitochondria. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **137**: 791-793, 1971.
110. BURTON, S. D. y T. ISHIDA, Effect of insulin on potassium and glucose movement in perfused rat liver. *Am. J. Physiol.*, **209**: 1145-1151, 1965.
111. GLINSMANN, W. H. y G. E. MORTIMORE, Influence of glucagon and 3'5'AMP on insulin reponsiveness of the perfused rat liver. *Am. J. Physiol.*, **215**: 513-559,1968.
112. MENAHAN, L. A. y O. WIELAND, Interactions of glucagon and insulin on the metabolism of perfused livers from fasted rats. *European J. Biochem.*, **9**: 55-62, 1969.
113. MACKRELL, D. J. y J. E. SOKAL, Antagonism between the effects of insulin and glucagon on the isolated liver. *Diabetes*, **18**: 724-731, 1969.
114. MORTIMORE, W. E. y C. E. MONDON, Inhibition by insulin of valine turnover in liver; evidence for a general control of proteolysis. *J. Biol. Chem.* **245**: 2375-2383, 1970.
115. JUNGAS, R. L., Role of cyclic 3'5' AMP in the response of adipose tissue to insulin. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **56**: 757-763, 1966.
116. CRYER, P. E., L. JARETT y D. M. KIPNIS, Nucleotide inhibition of adenyl cyclase activity in fat cell membranes. *Biochim. Biophys. Acta.*, **177**: 586-590, 1969.
117. BODBELL, M., The actions of insulin and catabolic hormones on the plasma membrane of fat cells. *Biochem.* J., 2p-3p-, 1967.
118. HEPP, K. D., Inhibition of glucagon-stimulated adenylcyclase by insulin. *FEBS Letters*, **12**: 263-266, 1971.
119. WILLIAMS, T. F., J. H. EXTON, N. FRIEDMANN y C. R. PARK, Effect of insulin and adenosine 3'5' monophosphate on K+ flux and glucose output in perfused rat liver. *Am. J. Physiol.*, **221**: 1645-1651, 1971.
120. EXTON, J. H., S. B. LEWIS, R. J. HO, G. A. ROBINSON y C. R. PARK, The role of cyclic AMP in the interaction of glucagon and insulin in the control of liver metabolism. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **185**: 85-100, 1971.
121. PARK, C. R., S. B. LEWIS y J. H. EXTON, Relationship of some hepatic actions of insulin to the intracellular level of cyclic adenylate. *Diabetes*, **21**: 439-446, 1972.
122. ILEANO, G. y P. CUATRECASAS, Modulation of adenylate cyclase activity in liver and fat cell membranes by insulin. *Science*, **175**: 906-908, 1972.
123. POHL, S. L., L. BIRNBAUMER y M. RODBELL, *J. Biol. Chem.*, **246**: 1849-1859, 1971.
124. BUTCHER, R. W., C. E. BAIRD y E. W. SUTHERLAND, *J. Biol. Chem.*, **243**: 1705-1712, 1968
125. SENFT. G., G. SHULTZ, K. MUNSKE y M. HOFFMAN, *Diabetologia*, **4**: 322-329, 1968.
126. HOUSE, P. D. R., P. POULIS y M. J. WEIDEMANN, Isolation of a plasma-membrane subfraction from rat liver containing an insulin-sensitive cyclic -AMP phosphodiesterase. *Eur. J. Biochem.*, **24**: 429-437, 1972.
127. HEPP, K. D., Adenylate cyclase and insulin action. *Eur. J. Biochem.*, **31**: 266-276, 1972.
128. LULY, P., O. BARNABEI y E. TRIA, Hormonal control in vitro of plasma membrane bound (Na^+-K^+) ATPase of rat liver. *Biochim. Biophys. Acta.*, **282**: 447-452, 1972.
129. HADDEN, J. W., E. M. HADDEN, E. E. WILSON y R. A. GOOD, Direct action of insulin on plasma membrane ATPase activity in human lymphocytes. *Nature, New Biology*, **235**: 174-177, 1972.

CIENCIA, MÉX.
15, Diciembre, 1975
XXIX (3-4) 193-203

DIABETES E INSULINOTERAPIA

REFLEXIONES SOBRE SU DESCUBRIMIENTO Y LAS APORTACIONES DE LA ESCUELA DE A. PI SUÑER *

R. Carrasco-Formiguera

Instituto de Medicina experimental de la
Universidad Central de Venezuela
Apartado 50.587, Sabana Grande, Caracas, Venezuela

Resumen

Se revisan los acontecimientos relacionados con los temas que se mencionan a continuación: Hallazgo de lesiones pancreáticas en cadáveres de diabéticos; extirpaciones probablemente incompletas de páncreas desde 1683; descubrimiento por Minkowski en 1889 de que la pancreatectomía total produce siempre diabetes en diversas especies; postulación de una secreción interna pancreática antidiabética producida en los islotes de Langerhans; aplicación de extractos conteniendo esta hipotética hormona al tratamiento de la diabetes humana y experimental, generalmente sin éxito, pero en algunos casos con resultados positivos aunque no decisivos; demostración concluyente, por Banting y Best (1921) de dicha secreción interna, mediante obtención de extractos pancreáticos denominados "isletín", que mantuvieron vivos y saludables durante mucho tiempo perros totalmente pacreatectomizados; primeras inyecciones de "isletín" a diabéticos humanos en enero de 1922; actuación del equipo ampliado de fisiólogos y clínicos en Toronto; mejoramiento de los extractos y cambio de su nombre por "insulin"; aspectos clínicos y fisiológicos de los primeros tiempos de la insulinoterapia (1922-1925) en Canadá y su extensión a todos los países; participación en la insulinoterapia, en su primer período, de algunos fisiólogos formados y dirigidos en Barcelona por Augusto Pi Sunyer.

Summary

After a short introduction, the events related to the following subjects are reviewed: Reports of pancreatic lesions in the bodies of diabetic patients. Probably incomplete pancreatectomies from 1683 through 1888. Discovery by Minkowski in 1889 of diabetes mellitus consistently following total pancreatectomy in several species. Postulation of a pancreatic antidiabetic internal secretion produced in the islets of Langerhans. Application of this hypothetical hormone to the treatment of human and experimental diabetes —generally unsuccessfully— but in some cases with positive although not decisive results. Definitive demonstration of the pancreatic antidiabetic internal secretion in 1821 by Banting and Best, who prepared pancreatic extracts —called "isletin"— which kept alive and in rather good condition for a long time totally depancreatized dogs. First "isletin" injections to human diabetics in January 1922. The achievements of an enlarged team of physiologists in Toronto. Improvement of the extracts and change of their name to "insulin". Clinical and physiological aspects of insulin-therapy during its early years (1922-1925) in Canada, and its spreading to all other countries. The participation in insulin-therapy during those early years of some physiologists trained and directed in Barcelona by August Pi-Sunyer.

La diabetes experimental

Desde 1788 se habían publicado hallazgos de lesiones pancreáticas en cadáveres de diabéticos [1] y hacia 1890 era ampliamente admitida la relación de causa a efecto entre ciertos trastornos pancreáticos y algunas formas de diabetes sacarina.[2] Se inicia la publicación de experimentos de extirpación del páncreas en 1683,[3] todos ellos, antes de 1889, con pancreatectomías probablemente incompletas y la mayor parte realizados con propósitos ajenos a la diabetes. En todos los casos, los animales que sobrevivieron a la operación, fueron objeto de observaciones diversas, sin que los investigadores respectivos hubieran advertido que los animales, así operados, fueran diabéticos, incluso en un experimento de 1683,[3] en el que el animal presentó polidipsia y poliuria, y en cuatro experimentos realizados antes de 1889 con el propósito de producir dia-

* Este trabajo, con algunas adiciones y supresiones, resume textos inéditos de dos conferencias pronunciadas el 18 de octubre de 1972 en el Hospital Regional de los Seguros Sociales y en el Sanatorio Guadalupe, de la ciudad de Puebla, México.

betes, uno de ellos en 1869, otro en 1886 y dos en 1888.[4,5]

Fué en 1889 cuando Minkowski halló que la pancreatectomía total produce, sin excepción, un síndrome diabético que ocasiona la muerte en pocas semanas en todos los perros operados que sobreviven a los efectos inmediatos de la operación.[6,7] Este descubrimiento de la diabetes pancreatopriva fue resultado de una primera pancreatectomía total practicada en un perro por Minkowski, ayudado por Von Mering, con premisas que nada tenían que ver con la diabetes. Al día siguiente de la operación el animal presentó intensa poliuria. Esto hizo sospechar a Minkowski que el perro tuviese glucosuria, lo cual comprobó. En los días consecutivos el animal desarrolló un síndrome diabético que le condujo a la muerte. Para averiguar si esta diabetes era debida a la extirpación del páncreas, Minkowski operó otros tres perros, esta vez sin ayuda de Mering, y comprobó que sí lo era. Estos experimentos fueron seguidos por otros muchos, en algunos de los cuales colaboró nuevamente con Mering. A pesar de que las dos primeras publicaciones en que se dió noticia del descubrimiento fueron firmadas por Mering y Minkowski, con el nombre de Mering en primer lugar,[6,7] hay motivos válidos para atribuir el mérito de dicho descubrimiento exclusivamente a Minkowski.[8,9]

La hipótesis de una secreción interna antidiabética del páncreas

Aun antes del descubrimiento de Minkowski, la existencia de una secreción interna del páncreas ya había sido entrevista,[10] pero la hipótesis de que dicha secreción ejerciese una acción antidiabética fue sugerida por Mering y Minkowski,[7] aunque sin mención explícita de tal secreción interna. Lépine[2] fue quien primero confirmó, en 1889, los hallazgos de Minkowski y los atribuyó a la supresión de una secreción interna del páncreas. Esta hipótesis fue sólidamente apoyada por numerosos experimentos realizados por diversos investigadores entre 1892 y 1919.[11-20] A pesar de esto, según testimonio de Banting,[21] uno de los más reputados expertos en el metabolismo de los hidratos de carbono, el profesor Macleod, sostenía a fines de 1920 que aún no se había podido demostrar la existencia de una secreción interna del páncreas.

Los precursores del descubrimiento de la insulina

Desde el descubrimiento de Minkowski al de Banting y Best, 1889-1921, numerosos investigadores, clínicos y fisiólogos, ensayaron el tratamiento hormonal de la diabetes en seres humanos y en animales de laboratorio. Estos ensayos fracasaron en su gran mayoría; pero, ya desde 1893,[22] en algunos se obtuvieron resultados más o menos alentadores, especialmente Gley[23] en 1901 —quien sorprendentemente, aunque en 1905 dejó testimonio escrito de su hallazgo, lo mantuvo secreto hasta 1922—, Zuelzer en 1908,[24,25] Kleiner en 1915 y 1919[26,27] y Paulesco en 1921.[28,29] Todos los investigadores que habían trabajado en este campo con resultados más o menos alentadores, por distintos motivos dejaron de hacerlo definitivamente o reanudaron tal trabajo sólo después de haberse publicado en 1922 el descubrimiento de Banting y Best.

El papel antidiabético de los islotes de Langerhans

En 1869, Langerhans[30] describió en el páncreas los acúmulos de células de tipo glandular, carentes de conductos excretores y rodeados de tejido acinar, que hoy llevan su nombre. Laguesse[31] fue el primero en sugerir, en 1893, que estos acúmulos, que Diamare había denominado, "isole di Langerhans"[32] —en castellano "islotes de Langerhans"— fuesen el lugar de producción de la secreción interna antidiabética del páncreas.

Después que varios investigadores, el primero de ellos Claude Bernard[33] en 1856, trataron de destruir el tejido glandular del páncreas mediante obstrucción de sus conductos excretores con infusiones de distintas substancias o ligadura de los mismos, Arnozan y Vaillard[34] hallaron en 1884 que la ligadura del conducto de Wirsung producía en conejos una degeneración de los acinos, la cual, al cabo de unas semanas, convertía el páncreas en un amasijo de cordones fibrosos, siendo los primeros en percatarse de que entre estos cordones persistían acúmulos de células epiteliales indemnes. Esta observación fue confirmada por otros autores en la misma especie animal y en otras especies, bien ligando los conductos excretores o utilizando varios métodos para obstruirlos. Shultze[35] y Ssobolev[36] fueron los primeros en identificar, ambos en 1900, los mencionados acúmulos de células epiteliales indemnes como islotes de Langer-

hans y en observar que en los animales con los acinos atrofiados, pero conservando los islotes indemnes, no aparecía síntoma alguno de diabetes; sus observaciones fueron confirmadas por otros investigadores, con la peculiaridad, descrita en primer lugar por el propio Ssobolev [37] en 1902, de que en algunos casos y momentos había glucosuria, pero en tales circunstancias los islotes de Langerhans se hallaban alterados. Opie,[38] en 1901, había descrito alteraciones de los islotes en las autopsias de varios diabéticos y la misma observación fue descrita por Ssobolev [37] en 1902. Por todos estos motivos, a principios del presente siglo se consideraba indudable el papel de los islotes de Langerhans en la producción de la secreción interna antidiabética del páncreas, y mucho más aún cuando Barron, en noviembre de 1920, publicó sus observaciones clínicas en pacientes con obstrucción litiásica de los conductos excretores del páncreas. Algunos de estos pacientes presentaban, además de degeneración de los acinos, alteración de los islotes de Langerhans, y en estos casos hubo diabetes, mientras que, aunque en todos hubo degeneración de los acinos, la mayoría conservó indemnes los islotes, y en estos casos no hubo diabetes.[38]

Causas de los repetidos fracasos de la pancreatoterapia en la diabetes y posibles caminos para evitarlos

Empezando por Ssobolev en 1902,[37] diversos autores sugirieron la posibilidad —finalmente comprobada— de que los fracasos de la pancreatoterapia, por vía oral, fuesen debidos a que alguno o algunos de los fermentos digestivos del paciente o del animal de experimentación anularan, de alguna manera, la acción antidiabética de la secreción interna del páncreas. El mismo Ssobolev fue también, probablemente, quien primero sugirió que los fracasos de la pancreatoterapia de la diabetes por vía parenteral —y también, por vía oral— fuesen debidos a la interposición con la acción antidiabética de la secreción interna del páncreas por alguno o algunos de los fermentos digestivos elaborados por la misma glándula. Estos antecedentes llevaron a utilizar únicamente la vía parenteral para la administración de extractos pancreáticos en cuya preparación se hubiese logrado evitar la acción de los fermentos digestivos de la glándula. Para ello, Ssobolev [37] en 1902 propuso dos métodos: uno, lo que él llamó la separación anatómica de los tejidos acinar e insular, deteniendo la degeneración del primero, lo que permitiría conservar la secreción interna de los islotes indemnes libre de fermentos digestivos en la porción degenerada del páncreas; o bien, el empleo de páncreas de terneros recién nacidos, en los que había observado que los islotes se hallaban mucho más desarrollados que los acinos, con lo que, según sus palabras textuales: "cabe esperar que en sus extractos la actividad digestiva no impida la acción de la substancia elaborada por los islotes". Sorprende constatar que este autor no utilizara ninguno de los dos métodos sugeridos por él, ya que con el primero y con otro muy semejante al segundo Banting y Best, desconociendo los que Ssobolev propusiera, consiguieron sus primeros éxitos en 1921.

Ya hemos visto que el método de la degeneración del páncreas por obstrucción de los conductos excretores había sido empleado por Gley en 1901, antes que Ssobolev lo hubiese indicado, pero que dicha técnica y su buen resultado habían permanecido inéditos hasta 1922. En 1904 [39] y en 1907 [40] se publicaron experimentos equivalentes basados en el hallazgo de Rennie,[41] en 1903, de la existencia de ciertos "islotes principales" en los teleósteos, que son precisamente islotes de Langerhans casi completamente separados de los acinos pancreáticos, lo cual permitía preparar extractos de islotes sin riesgo de contaminación por las enzimas digestivos del páncreas. A pesar de ello, estos experimentos fracasaron porque los extractos se administraron casi siempre por vía oral y probablemente algún proceso de su preparación inactivó a los que fueron administrados por vía parenteral y, además, produjeron reacciones tóxicas.

Otro método mucho más sencillo que los mencionados fue el empleo de alcohol para inactivar los enzimas digestivos del páncreas. Como se verá más adelante, este método, valiéndose de concentraciones alcohólicas adecuadas, dio resultados muy satisfactorios en manos de Banting y Best en diciembre de 1921. Antes de estos trabajos el método de extracción alcohólica fue empleado, cuando menos, por dos que podríamos considerar precursores: Zuelzer,[24,25] en 1908, con resultados bastante satisfactorios en cuanto al mejoramiento del trastorno diabético, pero infortunadamente provocando efectos secundarios muy graves, y E. L. Scott,[42] quien en 1912, después de fracasar con el método de la ligadura de los conductos excretores, al no obtener la degeneración de los acinos, preparó extractos alcohólicos, algunos de los cuales produjeron disminución considerable de la glucosu-

ria y del cociente glucosa/nitrógeno en perros pancreatectomizados, pero con el inconveniente de reacciones febriles consecutivas, que le hicieron creer –erróneamente– que los efectos beneficiosos debieran atribuirse a la reacción febril y no a la secreción interna del páncreas.

Finalmente, otro método, que dió resultados alentadores, fue la inactivación, del enzima proteolítico del páncreas por dilución en grandes volúmenes de agua, a un pH ligeramente ácido, que permitía conservar en proporción considerable la actividad antidiabética de la secreción interna. Este método fue empleado por Kleiner[26,27] en 1915 y 1919 y por Paulesco[43,44] en 1921 en perros pancreatectomizados. Ambos, utilizando extractos muy semejantes, obtuvieron resultados homólogos. Sus publicaciones no permiten concluir que ninguno de los dos autores citados hubiese utilizado esta técnica sabiendo que con ella ponían de manifiesto el factor más importante de sus resultados favorables, si bien, con ella, obtuvieron disminuciones altamente satisfactorias de la hiperglucemia, la glucosuria y la cetosis. También Kleiner y Paulesco realizaron experimentos con extractos semejantes de otros tejidos, los cuales no producían los efectos de los extractos pancreáticos. Paulesco halló disminución de la urea en sangre y orina y Kleiner efectuó, además, experimentos de control con medición de la hemoglobina, los cuales demostraron que las disminuciones mencionadas no eran atribuibles a dilución sanguínea. Es obvio que, a pesar de los buenos resultados obtenidos por ambos autores, los extractos que emplearon no eran utilizables para el tratamiento de la diabetes humana, por el enorme volumen que era necesario administrar para obtener los resultados mencionados, pero además, especialmente, por la gran proporción de prótidos y posiblemente de otras substancias indeseables que contenían. Esto último fue lo que obligó a Zuelzer[24,25] a suspender el empleo de sus extractos, mucho menos voluminosos, en el tratamiento de seres humanos en 1908. Kleiner,[27] al final de su artículo de 1919, reconoció explícitamente que sus extractos no eran adecuados para aplicarlos a seres humanos. Paulesco, por el contrario –y a pesar de que 2 de los 7 perros diabéticos a los que administró una sola inyección de su extracto murieron pocas horas después, uno de ellos en el curso de un acceso de fiebre– en 1924 publicó un artículo en el que sostenía que, con los extractos utilizados por él en 1921, había quedado "descubierto el tratamiento de la diabetes".[43]

El descubrimiento de la insulina

Los datos relativos al descubrimiento de la insulina y a los primeros tiempos de la insulinoterapia en Canadá, Estados Unidos y Europa, excepto los de España, que se exponen a continuación, sin referencia bibliográfica concreta, proceden de distintas publicaciones de Banting y Best, individual o conjuntamente,[21,44-47] de Wrenshall, Hetenyi y Feasby[48] y de Banting, Best y otros colaboradores.[49,50]

Frederick Grant Banting, en noviembre de 1920, leyó el artículo de Barron.[38] Esta lectura –sin conocer que, años antes, Ssobolev hubiese emitido la misma hipótesis y sugerido el mismo camino– le orientó hacia la hipótesis de que algún enzima digestivo del páncreas, según sus palabras: "el tripsinógeno o alguno de sus derivados" inactivase la secreción interna del páncreas, y la idea de que esta inactivación podría evitarse mediante la degeneración de los acinos. Así, después de unas horas de insomnio, a las dos de la madrugada del día siguiente al de dicha lectura, escribió en su libro de notas las siguientes palabras: "Ligar los conductos pancreáticos de perros. Esperar seis u ocho semanas para la degeneración. Extirpar el residuo y extraer".

La *Western University* no pudo facilitarle los medios necesarios para poner en práctica su plan de trabajo, por lo cual recurrió al Profesor Macleod, Jefe del departamento de Fisiología de la Universidad de Toronto, en solicitud de dichos medios. La primera entrevista con aquel investigador de fama mundial fue desalentadora, porque éste terminó la conversación preguntando a Banting qué era lo que esperaba conseguir cuando los fisiólogos mejor preparados no habían podido demostrar la existencia de una secreción interna del páncreas. Sin embargo, unas semanas más tarde, Macleod decidió facilitar a Banting lo que éste solicitaba, aunque en medida bastante limitada. Una de las facilidades otorgadas fue la ayuda de un discípulo suyo, muy competente en determinaciones de glucosa en la orina, en la sangre y en otras técnicas bioquímicas. Este ayudante fue Charles Herbert Best, nacido en 1899 y que en mayo de 1921 había terminado los estudios correspondientes al grado de "Bachellor in Arts" –equivalente a una licenciatura– en Fisiología y Bioquímica.

Otras facilidades, otorgadas inicialmente por Macleod, fueron un pequeño laboratorio, que estaría a la disposición de Banting y Best solamente a mediados de mayo de 1921, diez perros, el alimento para estos animales y los ma-

teriales y equipos químicos y quirúrgicos necesarios.

La primera ocupación de los dos jóvenes investigadores fue ponerse al corriente hasta donde les fue posible —que no fue mucho— de la bibliografía relacionada con su proyecto experimental. El trabajo de laboratorio empezó el 17 de mayo. Durante varios meses Banting y Best no tuvieron ayuda de nadie, ni siquiera personal auxiliar, de manera que todos los menesteres que en otras circunstancias habrían sido cumplidos por empleados subalternos fueron realizados por ellos. En la fecha mencionada empezaron a ligar los conductos pancreáticos de algunos perros y poco después procedieron a extirpar el páncreas de otros. Además, antes de las operaciones, y sistemáticamente después, practicaron exámenes de orina y sangre.

Cuando trataron de comprobar la eficacia de la ligadura, encontraron en los experimentos iniciales que los conductos pancreáticos no estaban totalmente ocluídos y los páncreas aparecían normales. Lejos de desanimarse por ello, como lo había hecho Scott [42] en 1912, practicaron nuevas ligaduras, procurando que éstas fuesen más seguras que las anteriores. Desde el 27 de julio dispusieron de algunos perros con atrofia pancreática satisfactoria y aquel mismo día extirparon uno de los páncreas con los acinis degenerados, con el cual hicieron su primer extracto. Para ello congelaron el residuo pancreático rico en islotes indemnes, lo molieron con arena, lo maceraron en unos 100 cc de solución de Ringer durante algún tiempo y finalmente filtraron con papel de filtro el extracto así obtenido. Todo el material empleado rigurosamente limpio y enfriado a bajas temperaturas. El extracto fue conservado en refrigeración hasta el momento de usarlo, y en este momento se atemperó a 37° aproximadamente. El primer experimento con este extracto fue realizado el 30 de julio y dos o tres inyecciones intravenosas de unos pocos cc del mismo con intervalos de una hora hicieron descender la glucemia de un perro en ayunas —cuya pancreatectomía probablemente no había sido completa— de 200 a 110 mg por cc.

Desde primeros de agosto, Banting y Best trabajaron incansablemente, algunas veces de día y de noche, comiendo y durmiendo a ratos en el laboratorio, con resultados, en conjunto, muy satisfactorios. Por ejemplo, en un perro cuya pancreatectomía había sido indudablemente total, que a media noche del 6 al 7 de agosto tenía una glucemia de 430 mg% y una relación G/N en la orina de 2, 8, típica de una diabetes pancreatopriva grave, tres inyecciones del extracto de páncreas degenerado —al cual llamaban "i letin"— administradas con intervalos de una hora, hicieron descender la glucemia a 290 mg%. El día 14 de agosto obtuvieron su primera hipoglucemia, provocada deliberadamente: un perro pancreatectomizado tres días antes, cuya glucemia, a pesar de repetidas inyecciones de isletin, el día 12 había llegado a 300 mg%, el día 14, después de nuevas inyecciones con dosis más altas, bajó a 60 mg%, valor que, con el método usado para su determinación, podía considerarse francamente hipoglucémico.

No todos los resultados de esta etapa fueron satisfactorios, pero esto movió a Banting y Best a tratar de corregir las causas de los experimentos negativos, llevándolos a realizar gran número de experimentos con diversas modificaciones al método inicial de preparación del páncreas degenerado. Precisaron la influencia de diversos factores, distintas vías de administración y realizaron también experimentos encaminados a verificar si los efectos favorables de la mayor parte de los extractos ensayados podían atribuirse a algún factor que no fuera la secreción interna del páncreas.

Los resultados obtenidos por Banting y Best en sus experimentos con páncreas sometidos a ligadura de sus conductos excretores, confirmaron de manera indiscutible la existencia de una secreción interna antidiabética del páncreas que había sido entrevista en 1882 [10] y en gran parte puesta de manifiesto por los experimentos de diversos autores a partir de 1892 [11-20] y sobre todo por los de Zuelzer[24,25] en 1908, Kleiner[26,27] en 1915 y 1919 y Paulesco[28,29] en 1921. Además de confirmar la validez de la hipótesis con sus experimentos de ligadura de los conductos pancreáticos, Banting y Best, a diferencia de sus predecesores, demostraron que era posible obtener extractos de dicha secreción interna, que podían administrarse repetidamente, por vía intravenosa o subcutánea, en volúmenes pequeños durante días y semanas, con efectos altamente beneficiosos en cuanto a la remisión de los trastornos diabéticos, sin perturbar el estado general de los animales totalmente pancreatoprivos y sin efectos secundarios que afectasen la vida de los animales. Sin embargo, se dieron cuenta de inmediato que no cabía esperar que un método que requería operaciones y esperas subsiguientes, como la ligadura de los conductos pancreáticos, pudiese ser empleado en el tratamiento de millares y aun millones de diabéticos,

y este convencimiento los decidió a buscar otros caminos.

El primero de los caminos ensayados fue muy semejante al segundo de los que habían sido sugeridos por Ssobolev [37] en 1902. Según palabras textuales de Banting:[21] "La primera idea fue extraer el páncreas de animales recién nacidos", es decir, exactamente lo sugerido como alternativa por Ssobolev unos 20 años antes, pero Banting, inspirado por ciertos experimentos de Ibrahim [51] y los de Carlson y Drennan,[16] modificó su primera idea como sigue: "Parecía razonable concluir que el páncreas de un feto a mitad de su desarrollo pudiese contener cantidades aun mayores de células insulares... Al mismo tiempo parece razonable concluir que, dado que la digestión no es llamada a actuar hasta después del nacimiento del animal, en el feto no habría substancias digestivas poderosas".

Los primeros extractos de páncreas fetal fueron preparadas con la misma técnica que utilizaron en los páncreas degenerados y todos ellos dieron resultados tan buenos como los mejores obtenidos con extractos de páncreas degenerado. Sin embargo, Banting y Best advirtieron que también el nuevo camino habría de ser poco práctico para tratar, en el futuro, millones de diabéticos. Pensaron entonces que, obteniendo una primera extracción con alcohol en proporciones adecuadas, sería posible emplear páncreas normal de animales adultos, mucho más fáciles de obtener en cantidades prácticamente ilimitadas. El alcohol eliminaría la acción perturbadora de los enzimas digestivos del páncreas y la mayor parte de los prótidos, lípidos y otras substancias sin acción antidiabética, pero probablemente responsables de efectos secundarios indeseables. El extracto alcohólico sería después desecado mediante el flujo de aire caliente o a baja presión y el residuo seco sería finalmente disuelto, suspendido o emulsionado en agua o en solución salina.

El nuevo método fue ensayado con páncreas fetal y dio resultados mucho mejores que cualquier otro de los extractos anteriores. Después fue ensayado utilizando páncreas normales de animales adultos. Desde mediados de noviembre, Banting y Best realizaron gran número de nuevos experimentos, mediante los cuales ratificaron la especificidad de la acción antidiabética de sus extractos pancreáticos, precisando algunos factores favorables para la obtención de extractos activos de páncreas normales de animales adultos y eliminaron otros adversos. De todo esto, completando sus aciertos anteriores, resultaron largas sobrevivencias de perros pancreatectomizados, que fueron liberados de síntomas apreciables de diabetes mientras se administraban dosis suficientes de extractos activos. A no ser por la interrupción excesivamente prolongada del tratamiento ningún animal murió de diabetes. Todos los animales adecuadamente tratados fueron autopsiados finalmente, con objeto de verificar si la pancreatectomía había sido efectivamente completa. Así fue como una perra totalmente pancreatectomizada, conocida con el nombre de "Marjorie", vivió 70 días desde la pancreatectomía hasta la autopsia, a pesar de haber sido utilizada repetidamente para experimentos con distintos extractos, algunos de los cuales resultaron inactivos o poco eficaces, y haber sufrido varias cortas interrupciones del tratamiento.

Banting y Best creyeron llegado el momento de intentar la aplicación de su "isletin" en el tratamiento de la diabetes humana. Con este objeto, a fines de diciembre, Best preparó un extracto de páncreas normal de buey adulto por el método del alcohol ya reseñado más arriba. Después de haberlo probado en animales diabéticos, para formarse una idea aproximada de su potencia y verificar la ausencia de efectos secundarios graves, Banting y Best se inyectaron subcutaneamente en un brazo, el uno al otro, pequeñas cantidades de dicho extracto. Las inyecciones les produjeron hinchazón y rubicundez locales y algún dolor que estimaron tolerable, por lo cual consideraron el extracto utilizable para ser ensayado en un diabético humano.

Las primeras inyecciones de "isletin" a un diabético humano

El primer diabético humano tratado con lo que todavía se llamaba "isletin" fue Leonard Thompson, de 14 años, internado en el Hospital General de Toronto, en estado sumamente grave. El médico que administró la primera inyección fue el Dr. Walter R. Campbell y la fecha de dicha inyección fue el 11 de enero de 1922. El resultado, desde el punto de vista de las manifestaciones clínicas de la diabetes, fue un rápido y manifiesto, aunque pasajero, descenso de la glucemia y de la glucosuria; pero presentó reacción local de hinchazón, rubicundez y dolor tan intensos, que obligó a interrumpir el tratamiento hasta que pudo obtenerse un nuevo extracto mejor tolerado. Desde entonces, el enfermo mejoró rápidamente bajo tratamien-

to con sucesivos extractos cada vez más potentes y de mejor grado de pureza. Leonard Thompson vivió de esta manera en estado bastante satisfactorio, a pesar de sus frecuentes transgresiones dietéticas, hasta que al cabo de 10 años murió a consecuencia de las lesiones sufridas en un accidente de moto.

Con lo que ahora sabemos es fácil comprender que la preparación de extractos pancreáticos antidiabéticos, adecuados para el tratamiento de diabéticos humanos, requirió estudios exhaustivos para excluir los factores adversos.

Banting y Best realizaron un número extraordinario de experimentos, muchos de ellos no publicados,[47] encaminados a tal estudio exhaustivo y fue gracias a ellos que los resultados obtenidos en perros pancreatectomizados durante los últimos meses de 1921[44-47] sin ayuda alguna y, entre enero y mayo de 1922 con la ayuda de Collip y otros colaboradores,[49,50] en animales de varias especies y en numerosos pacientes humanos, superan de tal manera a los obtenidos antes de 1923 por cualquiera de sus predecesores,[22-29,43] que nadie puede discutirles su prioridad en el descubrimiento del tratamiento hormonal de la diabetes sacarina en seres humanos, con extracto pancreático altamente eficaz, fácil empleo y razonablemente exentos de efectos secundarios indeseables, el cual recibió en mayo de 1922, junto con su producto activo ya muy próximo al estado de pureza, la denominación de "insulin", en castellano Insulina.

Los primeros tiempos de la insulinoterapia (1922-1925)

En el mes de enero de 1922, además de Leonard Thompson, empezaron a ser tratados otros enfermos con resultados muy buenos desde el punto de vista de la enfermedad y del estado general, aunque frecuentemente se presentaron reacciones locales molestas debidas a impurezas de los extractos. Esto dio oportunidad a que J. B. Collip, profesor de bioquímica en la Universidad de Edmonton, fuese encargado de perfeccionar la técnica de obtención de extractos activos libres de impurezas. Rápidamente se obtuvieron resultados satisfactorios que hicieron viable el tratamiento insulínico sin reacciones locales ni generales molestas. Collip halló también manera fácil y relativamente precisa de medir la potencia de extractos concentrados mediante ensayos en conejos normales. Esta potencia fue inicialmente expresada en las denominadas "unidades conejo" o "unidades fisiológicas", las cuales poco después fueron subdivididas en tres "unidades clínicas", de valor aproximado, pero no muy alejado de las que actualmente se conocen como unidades internacionales, establecidas mucho después.

Cuando Collip intentó pasar de la producción experimental a la producción en gran escala encontró grandes dificultades y, como el número de enfermos tratados aumentó rápidamente, hubo que interrumpir el tratamiento de algunos pacientes y, al ser interrumpido, aceleró la muerte de varios. En esta coyuntura, Collip hubo que incorporarse a su cátedra en la Universidad de Edmonton y la tarea de seguir purificando los extractos y conseguir la producción en gran escala fue encomendada a los "Connaught Laboratories" de la Universidad de Toronto, con Best como director de producción y, poco después, con la colaboración del bioquímico D. A. Scott. En mayo de 1922 se consiguió producir extractos considerablemente purificados, con rendimiento continuo y suficiente para que en Canadá fuesen ya numerosos los diabéticos tratados con magníficos resultados.

Algo más tarde, la producción en gran escala fue confiada a la "Ely Lilly Company" (Estados Unidos) cuyos técnicos, bajo la dirección del Dr. G. H. Cloves, contribuyeron eficazmente a la progresiva purificación de la insulina. El Dr. Eliot P. Joslin, de Boston, fue el primero en tratar diabéticos con insulina en los Estados Unidos en agosto de 1922. En septiembre del mismo año comenzó la preparación y el empleo clínico de la insulina en Gran Bretaña y poco después, se inició la preparación y el uso terapéutico, respectivamente, del nuevo medicamento en la Europa continental, punto sobre el cual insistiré más adelante. La preparación y el empleo clínico del mismo en la mayor parte de Europa y en otros países, empezaron en 1923.

A fines del verano de 1922, la denominación "insulin" fue registrada y los principios fundamentales del método de preparación de la insulina patentados. La legalización se hizo a nombre de la Universidad de Toronto. Estos trámites legales fueron realizados exclusivamente para proteger a los enfermos que hubiesen de menester el nuevo medicamento. Nunca la Universidad de Toronto ni los descubridores de la insulina percibieron remuneración alguna en concepto de derechos derivados de la mencionada protección legal. Con la finalidad de hacer efectiva esta protección, la Universidad de Toronto delegó en 1923 sus derechos a sendos

"Comités de la insulina" constituídos en diferentes países. Además del "Insulin Committee of the Governors of the University of Toronto", tengo noticia, concretamente, del Comité constituído en Alemania, presidido por el Profesor Oscar Minkowski. El Comité de España, fue presidido por el Profesor Augusto Pi Suñer y en él figuramos el Profesor Jesús M. Bellido y el firmante de este trabajo. Cuando pocos años después el uso de la insulina se hubo extendido por todo el mundo, y médicos y enfermos estuvieron en condiciones de no ser defraudados por industriales y comerciantes poco escrupulosos sobre lo que realmente era la insulina, la actuación de los mencionados Comités se hizo innecesaria y cesaron de facto.

Además del beneficio directo de prolongar la vida a millones de diabéticos en condiciones poco menos que normales, el descubrimiento de la insulina produjo el provechoso resultado indirecto de avivar el interés de clínicos investigadores por todo lo relacionado con la diabetes y su nuevo tratamiento hormonal. Así, Macleod, quien se había mostrado poco interesado en su primera entrevista con Banting, al conocer los primeros resultados clínicos que hicieron evidente la importancia práctica del descubrimiento de Banting y Best, sintió la necesidad de que fuesen estudiados a fondo numerosos problemas relacionados con la insulina, algunos de trascendencia práctica inmediata, otros de significación científica, los cuales, además de su valor intrínseco podrían ser también de aplicación inmediata. Lo consideró de tal importancia que dejó por el momento otros problemas en que estaba interesado y se dedicó personalmente, secundado por investigadores de su departamento, incluyendo a Banting y Best y a Collip, a trabajar en diferentes proyectos relacionados con los aspectos bioquímicos, fisiológicos y clínicos de la insulina. A esta labor se asociaron además los doctores W. R. Campbell, A. A. Fletcher, E. C. Noble y otros colaboradores de "Toronto General Hospital" y de dos hospitales más de Toronto. Este equipo ampliado bajo la dirección general de Macleod, aparte de las primeras publicaciones ya mencionadas de Banting y Best [44-46] y de las de marzo[49] y mayo [50] por miembros del grupo ya ampliado, en el lapso 1922-1925, produjo gran número de trabajos, que precisaron numerosos hechos relacionados con la insulina y con la diabetes en general, de grande importancia práctica y científica.

El estudio de los múltiples aspectos relacionados con la insulina y el renovado interés por la diabetes en general se extendió a todo el mundo. Este justificado afán se tradujo en una cuantiosa afluencia bibliográfica en los primeros tiempos de la insulinoterapia. No es posible entrar aquí en detalles sobre los valiosos resultados aducidos por toda esta fructífera labor colectiva en el lapso 1922-1925. Los lectores interesados podrán encontrar abundante información en otras publicaciones y, concretamente, en dos tratados que figuran en la bibliografía.[52,53]

Participación en la insulinoterapia, de los discípulos y colaboradores de Augusto Pi Sunyer en Barcelona, 1922-1925

A fines de mayo de 1922 el Profesor Collip visitó el Departamento de Fisiología de la "Harvard Medical School", donde me encontraba trabajando bajo los auspicios del maestro Cannon. Esta circunstancia me dio ocasión de recibir información directa, desde enero de aquel año, del éxito del tratamiento insulínico de la diabetes humana, lo cual me incitó a establecer de inmediato relación con el Profesor Macleod, a quien conocía personalmente, rogándole que, a ser posible, me facilitase los detalles del método de preparación de la insulina. Su respuesta fue que así lo haría tan pronto como estuviesen en vigor las medidas de protección legal que se estaban tramitando.

El Comité encargado de ejercer la protección legal del descubrimiento en España, durante el corto período de su cometido, pudo impedir fuera usada la denominación "insulina", que había solicitado un laboratorio local, para lanzar al mercado un extracto pancreático que pretendía ser eficaz como antidiabético por vía oral, preparado que luego tuvo que presentarse con otro nombre.

A principios de septiembre de 1922, ya de regreso en Barcelona, antes de recibir nuevas noticias del Profesor Macleod, pensé en la posibilidad de obtener un extracto pancreático activo como antidiabético con el método empleado por Dalmau [54] para obtener secretina en polvo. En colaboración con González, del Laboratorio Municipal de Barcelona, preparamos algunos extractos con los que pudimos observar descensos significativos de la glucemia en perros normales en ayunas.[55] Pocos días después de haber obtenido estos resultados alentadores, recibí del Profesor Macleod la técnica de preparación de la insulina empleada en Toronto en mayo del año 1922. Por este motivo suspendimos nues-

tro trabajo con el método de la acetona [54] y en los últimos días de septiembre llegamos a obtener un lote de páncreas bovino con actividad aproximada de tres "unidades clínicas" de insulina, medida en conejos. Con este extracto, el día 4 de octubre de 1922 administré mi primera inyección de insulina a un diabético humano: Francisco Pons, de 20 años, quien se hallaba en estado de extrema gravedad. Con este mismo extracto y con lotes de extractos semejantes, seguí tratando este primer caso y después a otros varios –incluso algunos vistos por primera vez en coma diabético y otros casos quirúrgicos– con excelentes resultados. Sin embargo, pocos meses después tuve que lamentar la muerte de Francisco Pons y de otro paciente, ambos por coma diabético consecutivo a enfermedades intercurrentes en momentos en que –como les había ocurrido a los pioneros de Toronto– se había agotado nuestra provisión de insulina.

No publicamos oportunamente los resultados obtenidos con nuestra preparación de insulina y de su empleo terapéutico en las fechas mencionadas, pero una y otro fueron mencionados incidentalmente en una carta personal al editor del "British Medical Journal" escrita con otra finalidad.[56] Esta circunstancia me permite recabar para la escuela barcelonesa de Pi Sunyer el honor de haber sido probablemente Barcelona el primer lugar de Europa continental donde se preparó y se utilizó terapéuticamente insulina. Sostengo esta prioridad por el hecho de que en su "The Story of Insulin",[48] Wrenshall y colaboradores, de la Universidad de Toronto, mencionan como los primeros países que realizaron tales preparación y empleo en el continente europeo a Dinamarca, Francia y Alemanía, labor realizada unos meses después a principios de 1923.

Otras contribuciones barcelonesas en los primeros tiempos de la insulinoterapia, que yo conozca, son las siguientes: Año 1923, *a)* Estudio de P. González y R. Carrasco, en el que demostramos que los conejos jóvenes, en las fases iniciales de su desarrollo son mucho más sensibles a la insulina que los animales adultos;[57] *b)* P. González, esta vez sin mi colaboración, montó el "Laboratorio González y Suárez" con la ayuda financiera de un socio capitalista, prosiguió y mejoró considerablemente la preparación de insulina, preparado que utilicé hasta que, a fines de 1923, empezó a llegar a Barcelona insulina fabricada en Inglaterra en gran escala, con la cual la preparación de González no pudo competir.

Año 1924, *a)* Un libro [52] y un artículo de revista [58] personales, conteniendo información sobre los aspectos fisiológicos y clínicos de la insulina; *b)* Dos trabajos también personales de investigación clínica, uno sobre la influencia beneficiosa del tratamiento insulínico sobra la función menstrual en un caso de diabetes juvenil grave [59] y el otro sobre la influencia, asimismo favorable, de la insulina sobre el metabolismo proteico en cinco casos de diabetes en momentos de gravedad excepcional.[60] El "Instituto Bioquímico Hermes" dirigido por el Dr. M. Busquets produjo insulina que pude utilizar con buenos resultados, pero que tampoco pudo competir con la calidad de la insulina importada de Inglaterra, E.U.A. y Dinamarca.

Año 1925, *a)* Un trabajo de J. Puche con mi colaboración,[61] en el que pudimos demostrar que, contrariamente a afirmaciones de otros fisiólogos, los efectos de la insulina sobre el glucógeno hepático en animales sanos y diabéticos no son esencialmente diferentes, aunque algunas veces parezcan serlo; *b)* Dos trabajos míos de investigación clínica: en uno de ellos,[62] cuya finalidad era refutar la afirmación de la eficacia de la administración oral de páncreas fresco, publicada poco antes en el "British Medical Journal", pude demostrar, como era de esperar la ineficacia de tal administración; en el otro trabajo[63] traté de objetar, respetuosamente, el pesimismo que mostraba en cuanto a la eficacia de la insulina el Dr. E. P. Joslin, quien en un libro suyo [64] consideraba insuficiente la acción de la insulina en casos de infección muy graves. Para ello aduje el estudio de diversos casos de intervención quirúrgica por complicaciones infecciosas gravísimas de la diabetes, tratados por mí con insulina; *c)* Un trabajo de J. M. Bellido y J. Puche [65] en el que dieron noticia de sus observaciones sobre la hiperglucemia inicial provocada por la insulina de aquel tiempo –que ahora sabemos estaba contaminada por glucagon –y demostraron que, desde este punto de vista, no había diferencia alguna entre las tres vías de administración subcutánea, intrasafena e intramesaraica, esta última empleada con objeto de hacer llegar directamente al hígado la insulina así inyectada.

Para terminar, deseo hacer constar que mis fuentes de información para consignar la participación catalana en los primeros tiempos de la insulinoterapia se limitan a la colección de los "Treballs de la Societat de Biología" de Barcelona y a mis propias publicaciones; sin embargo, no excluyo la posibilidad de que exis-

tan algunos otros trabajos de autores catalanes relacionados con la insulinoterapia durante el período 1922-1925, de los cuales no hago mención por no conocerlos. De ser así, agradecería cualquier información sobre ellas.

Bibliografía

1. Cawley, I., A singular case of diabetes consisting enterely in the quality of the urine; with an inquiry into the different theories of that disease. *London Med. J.*, **9**: 286, 1788.
2. Lépine, S., Rapports entre le diabète et les lésions du pancréas. Nouvelle théorie du diabète. *Lyon Méd.*, **62**: 620, 1889.
3. Brunner, J. S. Von, Experimenta nova circum pancreas. Accedit diatribe de limpha et genuinus pancreatis usu. Amsteloedami apud H. Weststenium, 1683.
4. Klebs, E. y P. Munk, en Tageblatt der 43 Versamlung deutscher Naturforscher und Aertze in Insbruck, 1869.
5. Finkler (1866), Semm (1888) y Martinotti (1888). [Citados por Mering y Minkowski[7]].
6. Mering, J. Von y O Minkowski, Diabetes mellitus nach Pankreasextirpation (Original Mitteilung) *Centralblatt f. klin. Med.*, **10**: 393, 1889.
7. Mering, J. Von y O. Minkowski, Diabetes mellitus nach Pankreaextirpation, *Arch. F. exper. Path. u. Pharmakol.*, **26**: 371, 1889-1890.
8. Maunyn, B., Erinerungen, Gedanken und Meinungen. J. F. Bergmann, München, p. 457, 1925.
9. Houssay, B. A., The discovery of pancreatic diabetes. The role of Oscar Minkowski: *Diabetes*, **1**: 112, 1925.
10. Kühne, W. y A. S. Lea, Beobachtungen über die Absonderung des Pankreas. *Untersuchungen a. d. physiol Inst. d. Univ. Heidelberg*, **2**: 448, 1882.
11. Minkowski, O., Untersucnungen über des Diabetes mellitus nach Extirpation des Pankreas. *Arch. f. exper. Path. u. Pharmakol*, **31**: 85, 1892.
12. Minkowski, O., Weitere Mitteilungen über den Diabetes mellitus nach Extirpation des Pankreas. *Berl. klin Wchnschr.*, **29**: 90, 1892.
13. Hedon, E., Greffe sous-cutanée du pancréas. *Compt. rend. Soc. de biol.*, **44**: 307, 1892.
14. Hedon, E., Greffe sous-cutanée du pancréas. *Compt. rend. Soc. de biol.*, **44**: 687, 1892.
15. Drennan, F. M., The presence of the internal secretion of the pancreas in the blood. *Am. J. physiol.*, **28**: 396, 1911.
16. Carlson, A J. y F. M. Drennan, The control of pancreaticdiabetes in pregnancy by passage of the internal secretion of the fetus to the blood of the mother. *Am. J. Physiol.*, **28**: 391, 1912.
17. Carlson, A. J. y E. Ginsburg, The influence of blood transfusion of the hyperglycemia and glycosuria of pancreatic diabetes in the dog. *Am. J. Physiol.*, **36**: 280, 1915.
18. Clark, A. H., The interrelation of the surviving heart and pancreas of the dog in sugar metabolism. *J. exper. Med.*, **24**: 621, 1916.
19. Clark, A. H., The interrelation of the surviving heart and pancreas of the dog in sugar metabolism. (2nd. paper). *J. exper. Med.*, **26**, 721, 1917.
20. Clark, A. H., The interrelation of the surviving heart and pancreas of the dog in sugar metabolism. *Johns Hopkins Hosp. Rep.*, **18**: 229, 1919.
21. Banting, F. G., The Story of Insulin. *Edinburg med. J.*, **36**: 1, 1939.
22. Capparelli, A., Zur Frage des experimentellen Pankreasdiabetes. *Biol. Centralbl.*, **13**: 495, 1893.
23. Gley, E., Action des extraits de pancréas sclerosé sur les chiens diabétiques (par extirpation du pancréas). *Compt. rend. Soc. de Biol.*, **87**: 1322, 1922.
24. Zuelzer, G., M. Domrn y A. Nachter, Neure Untersuchungen über den experimentellen Diabetes. *Deutsche med. Wochnschr.*, **34**: 1380, 1908.
26. Kleiner, I. S., y S. J. Meltzer, Retention in the circulation of dextrose in normal and depancreatized animals, and the effect of an intravenous injection of an emulsion of pancreas upon the retention. *Nat Acad. Sc. Proc.*, **1**: 338, 1915.
27. Kleiner, I. S., The action of intravenous injections of pancreas emulsion in experimental diabetes. *J. Biol. Chm.*, **40**: 153, 1919.
28. Paulesco, N. C., Action de l'extrait pancréatique injecté dans le sang chez un animal diabétique. *Compt. rend. Soc. de Biol.*, **85**: 555, 1921.
29. Paulesco, N. C.| Recherches sur le rôle du pancréas dans l'assimilation nutritive. *Arch. intern. de physiol.*, **16**: 86, 1921.
30. Langerhans, P. Beiträge zur microscopischen Anatomie des Bauchspeicheldrüse. Dissertation. Berlin, G. Lange 1869.
31. Laguesse, M. E., Sur la formation des îlots de Langerhans dans le pancréas. *Compt. rend. Soc. de Biol.*, **45**: 819, 1893.
32. Diamare, V., Studii comparativi sulle isole di Langerhans. *Internat. Monstch. f. Anat. u. physiol.*, **16**: 155, 1889.
33. Bernard, Cl., Mémoire sur le pancréas. París 1956. Leçons de Physiologie Expérimentale appliquée ã la Medecine. vol. II-274. J. B. Bailliére et Fils, París 1955.
34. Arnozan y Vaillard, Contribution a l'étude du pancréas du lapin: lésions provoquées par la ligature du canal de Wirsung. *Arch. de physiol. normal et pathol.*, **3**: 287, 1884.
35. Schultze, W., Die Bedeutung der Langerhanschen Inseln im Pankreas. *Arch.. f. mikr. Abat.* (Bonn), **56**: 941, 1900.
36. Ssobolev, L. W., Über die Structur des Bauchspeicheldrüse unter gewisse pathologischen Bedingungen. *Centralbl. f. allg. Path. u. path. Anat.*, **11**: 1900.
37. Ssobolev, L. W., Zur normalen und pathologischen Morphologie der inneren Secretion der Bauchspeicheldrüse. *Virchw's. Arch. f. path. Anat.*, **168**: 91, 1902.
38. Barron, M., The relation of islets of Langerhans to diabetes, with special reference to cases of pancreatic lithiasis. *Surg. Gynecol. and Obstetr.*, **31**: 437, 1920.
39. Diamare, V. y A. Kuliako, Zur Frage nach der physiologischen Bedeutung der Langerhanschen Inseln im Pankreas. Vorläufige Mitteilungen. *Zentralbl. f. physiol.*, **18**: 432, 1904.
40. Rennie, J. y T. Fraser, The islets of Langerhans in relation to diabetes. *Biochem. J.*, **2**: 7, 1907.
41. Rennie, J., On the occurrence of a principal islet in the pancreas of teleostei. *J. Anat. and Physiol.*, **37**: 375, 1903.

42. SCOTT, E. L., On the influence of intravenous injections of an extract of pancreas on experimental diabetes. *Am. J. Physiol.*, **29**: 714, 1924.

43. PAULESCO, N. C., Traitement du diabète (Documents établisant la priorité). *Compt. rend. Soc. de biol.*, **90**: 714, 1924.

44. BANTING, F. G. y C. H. BEST, The internal secretion of the pancreas en "Selected papers of Charles H. Best, pp. 38-41, University of Toronto Press, Toronto, 1963.

45. BANTING, F. G. y C. H. BEST, The internal secretion of the pancreas. *J. Lab. and Clin. Med.*, **7**: 251, 1921-1922

46. BANTING, F. G. y C. H. BEST, Pancreatic extracts. *J. Lab. and Clin. Med.*, **7**: 464, 1921-1922.

47. BEST, C. H., A Canadian trail of medical research. *J. of Endocrinol.*, **19**: 1, 1959.

48. WRENSHALL, G. A., G. HETENYI y W. R. FEASBY, The story of insulin. pp. 62-71. The Bodley Head, Londres, 1962.

49. BANTING, F. G., C. H. BEST, J. B. COLLIP, W. R. CAMPBELL y A A. FLETCHER, Pancreatic extracts in the treatment of diabetes mellitus. *Canad. M.A.J.*, **12**: 141, 1922.

50. BANTING, F. G., C. A., BEST, J. B. COLLIP, J. J. R. MACLEOD, E. C. NOBLE y J. HEPBURN, Preliminary Studies on the Physiological effects on insulin. *Transac. R. Soc. Canada, Series 3*, **16**: section V, 27-44, 1922.

51. IBRAHIM., J., Trypsinogen und Enterokinase bei menslichen neugeboren und Embrio. *Biochem. Ztschr.*, **22**: 24, 1909.

52. CARRASCO-FORMIGUERA, R., Insulina. Estudio Fisiológico y Clínico. 198 págs. con 232 referencias bibliogr.). Publicaciones del Instituto Bioquímico Hermes. Barcelona, 1924.

53. JENSEN, H. F., Insulin Its Chemistry and Physiology. The Commonwealth Fund., New York, 1938.

54. DALMAU, M., Mètode per a obtenir secretina en pols. *Treballs de la Societat de Biologia (Barcelona)* **5**: 19, 1917.

55. CARRASCO-FORMIGUERA, R. y P. GONZÁLEZ, Sobre l'obtención d'extrets pancreàtics contenint una substancia (Insulina) que pot fer baixar la concentració del sucre de la sang. *Treballs de la Societat de Biologia (Barcelona)* **9**: 223, 1922.

56. CARRASCO-FORMIGUERA, R., Insulin and diabetes. *Brit. med. J.* **2**: 1143, 1922.

57. GONZÁLEZ, P. y R. CARRASCO-FORMIGUERA, Sur l'action physiologique de l'insuline. *Compt. rend. Soc. de Biol.* (París), **89**: 1237, 1923.

58. CARRASCO-FORMIGUERA R., Insulina. *Revista médica de Barcelona*, **1**, 144, 1924.

59. CARRASCO-FORMIGUERA, R., Influencia de la insulina sobre los trastornos de la función menstrual en un caso de diabetis greu. *Treballs de la Societad de Biologia (Barcelona)*, **10**: 164, 1924.

60. CARRASCO-FORMIGUERA, R., La influencia de la insulina sobre el metabolisme protéico en la diabetis greu *Treballs de la Societad de Biologia (Barcelona)*, **10**: 169, 1924.

61. CARRASCO-FORMIGUERA, R. y J. PUCHE, Sur le mécanisme de l'action de l'insuline. *Comp. rend. Soc. de Biol. (París)*, **92**: 215, 1925.

62. CARRASCO-FORMIGUERA, R., Treatment of Diabetes by raw wresh gland (Pancreas). *Brit. med. J.*, **2**, 552, 1925.

63. CARRASCO-FORMIGUERA, R., Diabetes, surgical infection and insulin. *The Lancet*, **1**: 1076, 1925.

64. JOSLIN, E. P., Treatment of Diabetes Mellitus, and insulin. 3a. edición. Filadelfia y Nueva York, p. p. 99, 618 y 636, 1923.

65. BELLIDO, J. M. y J. PUCHE, La hiperglucèmia insulínica i les vies d'administració de la insulina. Nota sobre la via mesaraica. *Treballs de la Societat de Biologia (Barcelona)*, **11**: 127, 1925.

CIENCIA, MÉX.
15, Diciembre, 1975
XXIX (3-4) 205-211

RECEPTORES INSULINICOS Y ACCION HORMONAL

PEDRO CUATRECASAS

Departamento de Farmacología y Terapéutica Experimental y Departamento de Medicina
Escuela de Medicina de la Universidad de Johns Hopkins
Baltimore Maryland, 21205, E. U. A.

RESUMEN

Se tratan algunos hechos fundamentales referentes a las propiedades de los receptores insulínicos de las membranas celulares. Estas estructuras receptoras pueden ser medidas y estudiadas directamente en células y membranas intactas, siendo también evaluables las interacciones de unión de las proteínas, carbohidratos y lípidos de la membrana. El receptor insulínico parece ser una glicoproteina y puede ser extraído y purificado de las propias membranas. Han sido estudiadas las propiedades moleculares de este receptor. La naturaleza de los receptores insulínicos en los casos insulino-resistentes y su transformación en la célula se describen en el texto. También se exponen las posibilidades bioquímicas de los complejos insulino-receptores y la relación de sus efectos sobre la intervención de los nucleótidos cíclicos en el control del crecimiento y diferenciación celulares. Se propone una hipótesis para explicar la interacción de los complejos hormona-receptor con estructuras y funciones secundarias localizadas en la membrana, considerando la fluidez de las membranas celulares.

SUMMARY

Some fundamental features and properties of insulin receptors of cell membranes are considered. Such receptor structures can be measured and studied directly in intact cells and membranes, and the contribution of membrane proteins, carbohydrates and lipids to the binding interaction can be measured. The insulin receptor, which appears to be a glycoprotein, can be solubilized from membranes and purified. The molecular properties of the solubilized receptor have been studied. The nature of insulin receptors in insulin-resistant states and in cell transformation are described. The possible biochemical effects of insulin-receptor complexes are considered, and the relation of these effects and of cyclic nucleotides on the control of cell growth and differentiation are considered. A hypothesis is suggested to explain the interaction of hormone-receptor complexes with secondary membrane-localized structures and functions, based on the fluidity of cell membranes.

La union de la insulina a cierta variedad de células y membranas ha sido estudiada minuciosamente en varios laboratorios (revisiones[1,5,6]). Esta unión es altamente específica para dicha hormona y algunos compuestos químicos compiten la unión de acuerdo con su efectividad como agonistas. En las células grasas, ha sido discernido un nexo de unión, saturable de alta afinidad (alrededor de 10^{m}) cuyo valor corresponde muy de cerca con los efectos biológicos de la hormona sobre la misma célula. Las células grasas contienen pocos receptores para la insulina, unos 10,000 por célula o unos 10 por μm^2 de superficie. La unión es espontáneamente reversible y las velocidades de disociación y de asociación pueden ser medidas por separado. Las moléculas de insulina que se liberan conservan probablemente su integridad química, ya que su potencia biológica permanece inalterada; de esta suerte la interacción de la hormona con los receptores no implica enlaces covalentes estables y no va acompañada con desintegración o inactivación de la misma.

Estas observaciones sugieren que la fijación y activación de la insulina puede atribuirse simplemente a la concentración de la hormona en las superficies extracelulares y el equilibrio se produciría con igual rapidez que la velocidad de disociación del complejo hormona-receptor. En la actualidad sabemos que existen, en los tejidos periféricos, mecanismos específicos para incorporar o desintegrar la insulina. Aunque la insulina puede ser desintegrada por preparaciones de microsomas y enzimas solubles procedentes de todos los tejidos periféricos, hasta ahora no se considera que esta posibilidad desintegrativa juegue un papel fisiológico importante sobre la fijación normal de la hormona en cualquier tejido, exceptuando el hígado. Aunque el hígado es punto clave del proceso desintegrador

de la hormona, la mecánica por la cual se produzca este fenómeno sobre la insulina circulante no está aclarada todavía. ¿El sistema desintegrador hepático responde únicamente a la concentración de hormona en el medio? ¿Puede atribuirse a cambios químicos de las moléculas de insulina circulante la responsabilidad de que una parte de estas moléculas puedan degradarse , mientras que otras eludan la alteración. ¿Podrían, por ejemplo, unirse a proteínas específicas del suero o sufrir modificaciones enzimáticas (glicosilación) como indicio de desintegración química de un cierto número de moléculas?

Ahora se considera que el hígado posee un alto índice desintegrador en determinados lugares de la membrana celular que pueden reconocer pequeños cambios en ciertas glicoproteínas plasmáticas, tales como los que presente una galactosa terminal por la separación de un residuo de ácido siálico.[7] Estos cambios pueden ir acompañados con variaciones de la actividad biológica intrínseca de la proteína. La contestación a estos interrogantes puede ser de importancia para nuestra comprensión de la homeostasis de la insulina, así como para identificar ciertos estados patológicos, como el hiperinsulinismo o la resistencia a la insulina.

Los puntos de unión o fijación de la insulina sobre las células grasas hállanse probablemente localizados en la superficie externa de estas células, ya que no se ha podido demostrar la existencia de estos puntos de enlace en las fracciones de los productos de la digestión de estas células con agar-tripsina. La localización en la superficie externa de la membrana citoplasmática ha sido precisada utilizando la reversión de vesículas de la misma membrana. La digestión con tripsina de estas vesículas no destruye la unión, ya que puede ser observada después de la ruptura de las vesículas. Si la insulina marcada (I^{125}) se fija sobre la célula intacta antes de la endovesiculación y reversión de las vesículas, la hormona no podrá disociarse, a menos que éstas sean materialmente destruidas tratándolas con fosfolipasa o por detergentes. Estos estudios también indican que no se advierte cambio apreciable de estos receptores entre la superficie externa o interna de la membrana.

La estructura de los receptores insulínicos hállase probablemente compuesta por glicoproteínas, en virtud de que la digestión con neuraminidasa seguida por B-galactocidasa, disminuye la afinidad del complejo receptor insulínico y también por el comportamiento de aquellos con ciertas lectinas vegetales que se unen a estas estructuras. Estos puntos de unión son también muy susceptibles a las proteasas; la digestión atenuada afecta primeramente la afinidad de las uniones, mientras que una digestión más intensa produce destrucción muy drástica de la actividad de las mismas. Un aspecto interesante y no explicado es la develación de muchos "nuevos" puntos de unión en las células digeridas o en las membranas con ciertas fosfolipasas o sujetas a los efectos de altas concentraciones, (2^N de cloruro sódico). Se desconoce la posible significación de estos puntos crípticos. Las macromoléculas de unión con la insulina han sido solubilizadas, a partir de membranas celulares, con detergentes no iónicos, siendo las propiedades de unión del material solubilizado notablemente parecidas a las que se aprecian en la membrana intacta. Los parámetros moleculares de los receptores indican disposición asimétrica y un peso molecular de alrededor de 300,000. No ha sido posible obtener estructuras de peso molecular más bajo (sub-unidades) que muestren actividad receptora para la insulina. Los receptores han sido purificados, muy cerca de la homogeneidad, combinando las técnicas convencionales, afinidad cromatográfica de agar-insulina con las de derivados del germen de trigo agar-aglutinin. La mayor dificultad, en este aspecto, consiste en la purificación de estas moléculas en cantidad suficiente para lograr su identificación química. La escasez de receptores en los materiales biológicos puede apreciarse por el hecho de que, para obtener receptores de insulina puros utilizando membranas de hígado de rata, se requiere un grado de purificación equivalente a 500,000. En contraste con esta dificultad, recordaré que la purificación de los receptores de acetilcolina a partir de tejidos de peces requiere una purificación de 100 a 500.

Los receptores insulínicos han sido estudiados en distintas circunstancias de resistencia a esta hormona. En el síndrome de obesidad hiperglicémica del ratón se ha comprobado una disminución de los receptores de insulina en las membranas de las células de hígado y de las células de grasa, como característica hereditaria recesiva.[18] No conocemos el significado que pueda atribuirse a esta aparente "disminución" con respecto a la fisiología de la insulina en este estado anormal, siendo aventurado establecer cualquier explicación relacionada con la insu-

lino-resistencia. Las respuestas fisiológicas normales dependen de la coordinación, con distintos pasos, de un complejo bioquímico, de los cuales, tal vez, el más sencillo pueda ser la unión con los receptores. Aún considerando estas transformaciones limitadas a la membrana celular, parece ser que el complejo hormona-receptor, una vez formado, debe modificar de un modo altamente específico y sutil la actividad de otros componentes localizados en la membrana, tales como la adenil-ciclasa, las permeasas transportadoras de glucosa y quizá también la guanil-ciclasa y la fosfodiesterasa. El enlace inicial de la hormona con el receptor y su interacción con otros procesos celulares es probablemente muy afectado por ligeras modificaciones de la composición de la membrana; fosfolípidos, carbohidratos, etc. y tal vez sea inadecuado imaginar que las anormalidades metabólicas puedan originarse principalmente a nivel del receptor. Además de las funciones localizadas en la membrana que deben ser finalmente reguladas por el receptor, concurren sin duda otros complejos procesos intracelulares, que pueden ser modificados al producirse respuestas anormales a la hormona. El número de puntos de unión con la insulina se mantiene normal en ciertos estados de resistencia metabólica insulínica, tales como las ratas en inanición, tratadas con prednisona, o con diabetes experimental por administración de estreptozotocin y también en otras especies animales que muestran disminución de sensibilidad a la insulina.[9]

Recientemente se ha demostrado[10] que la fosforilación exógena de cierta proteína específica, de bajo peso molecular, en la membrana de las células de grasa, es afectada selectivamente en cuanto al transporte de glucosa, pero no modifica otras respuestas a la insulina, tales como la antilipolísis. Por ello, fuera interesante determinar si esta modalidad de fosforilación en la membrana se encuentra modificada en algunas de las circunstancias antes descritas, especialmente teniendo presente que la fosforilación de las proteínas constituye un mecanismo regulador importante en Biología.

Los leucocitos humanos circulantes por la sangre de la periferia poseen puntos de unión específicos para la insulina.[11] Sin embargo, se ha demostrado[12,13] que mientras algunos leucocitos, por ejemplo macrófagos, pueden fijar considerables cantidades de insulina, los linfocitos, liberados de macrófagos y purificados en columna de nylon, los polinucleares y las plaquetas, muestran menos de un punto de unión por cada célula. Prácticamente no se ha logrado localizar uniones en estas células comparándolos con los linfocitos (RPMI 6237) mantenidos en cultivos o con linfocitos normales tratados *in vitro* por lectinas vegetales.[11] Los puntos de unión observados en los linfocitos no fraccionados pueden explicarse por la contaminación a 0.3% con células del tipo de los macrófagos o de linfocitos transformados.

Recientemente se ha observado que durante la transformación mitogénica de linfocitos humanos, determinada por distintos mitógenos, surge *de novo* una población de receptores insulínicos en la superficie celular.[12,13] Sería importante conocer si tales receptores aparecen también cuando los linfocitos se someten a estímulos más fisiológicos, concretamente a la acción de un antigeno específico. La aparición de receptores se produce consecutivamente por la activación de ARN y síntesis proteica y antecede a los cambios morfológicos de la transformación. Estos receptores pueden relacionarse, de algún modo, con los procesos que se producen después del estímulo inicial determinante antes de la división celular. Es muy interesante constatar que en la leucemia linfocítica aguda con linfoblastos (en el hombre) se aprecian receptores insulínicos parecidos a los que se observan en las células transformadas por mitógenos *in vitro*, mientras que las células de la leucemia linfocítica crónica humana presentan muy escaso número de receptores (o ninguno).

Hace tiempo sabemos que la insulina puede actuar como un sustitutivo del suero en el crecimiento de cultivos celulares, pero solamente a concentraciones superiores a las que se producen *in vivo*. Comparando la insulina con el factor de crecimiento epidérmico, aquella muestra poder mitógeno muy bajo para los fibroblastos humanos,[14] lo que puede significar que la afinidad de la insulina (derivada de los estudios de fijación) para los receptores de los fibroblastos y linfocitos transformados por lectinas sea de un orden de magnitud inferior a la afinidad por los receptores de las membranas de las células grasas o de los hepatocitos. Debe admitirse la posibilidad de que estos "receptores" puedan ser ocupados normalmente por otras sustancias no identificadas como péptidos séricos con propiedades promotoras del crecimiento, semejantes a la insulina y suficiente reactividad cruzada con la insulina para que disminuyan la afinidad específica de los "receptores" para

esta hormona.[13] Otras proteínas como la concanavalina A y la aglutinina del gérmen de trigo, por ejemplo, son compuestos que presentan fuerte competición insulínica y pueden interactuar directamente en los receptores específicos. Existen razones para suponer que ciertos péptidos del suero semejantes a la insulina (v. gr., somatomedina, actividad no supresora de sustancias parecidas a la insulina, actividad estimulante del crecimiento) puedan interactuar con las estructuras de los receptores insulínicos. Existen precedentes de superposición, en los receptores específicos, de sustancias como la vasopresina y la oxitocina (H. antidiurética y de la H. de la contracción uterina),[15] hormona del crecimiento, lactógena de la placenta humana y prolactina[16] y también secretina y el polipéptido activador de los vasos intestinales.[17]

Se ha demostrado recientemente que las lectinas vegetales, como concanavalina A y la aglutinina de germen de trigo, poseen actividad similar a la insulina sobre las células grasas y que estas lectinas se unen directamente a los receptores específicos.[18] Concentraciones fisiológicas de insulina pueden inhibir la adenil-ciclasa[19] de las membranas celulares de los hepatocitos y de las células grasas aisladas, restos de células grasas, fibroblastos y membranas aisladas de *Neurospora crassa*. Esta acción puede también ser mimetizada por bajas concentraciones de lectina y concanavalina A. Es posible que la mitogenicidad de la concanavalina A pueda estar vinculada a sus acciones insulínicas y más específicamente a sus efectos sobre la actividad de la adenil-ciclasa o con otros procesos íntimamente relacionados.[18]

También se ha demostrado que los estímulos mitogénicos causan de inmediato aumento considerable de la GMP cíclica en los linfocitos.[20] Igualmente la insulina[21] determina aumento rápido y significativo de este nucleótido cíclico en tejidos sensibles a ella (células grasas, hígado) pero no en los linfocitos en reposo desprovistos de receptores insulínicos y aparentemente insensibles a esta hormona. Con respecto a esta actividad, ciertas lectinas pueden también considerarse de tipo insulínico. Datos recientes sugieren que puedan existir importantes relaciones recíprocas entre los niveles celulares de AMP cíclico y GMP cíclico.[20] Aunque se desconocen los mecanismos que regulan las concentraciones de estos nucleótidos cíclicos, es posible que dichos cambios estén íntimamente relacionados con los procesos de mitogénesis. Debemos tener en cuenta que los estímulos mitogénicos suscitan respuestas "tipo insulina" artificiales (v. gr., inhibición de la adenil-ciclasa, aumento de GMP cíclico, supresión de AMP cíclico) y son capaces de activar células carentes de receptores insulínicos. En esta hipótesis se anticipa que la activación antigénica de los linfocitos puede producirse de modo semejante a como se desencadena una respuesta "tipo-insulínico" por receptores altamente específicos para el antígeno en la superficie de los linfocitos.

En determinadas circunstancias la insulina puede disminuir la concentración intracelular del AMP cíclico de las células del tejido adiposo y del hígado; estos cambios aparecen relacionados con alguno de los efectos biológicos de la insulina sobre estos tejidos. Aunque la insulina puede disminuir la actividad de la adenil-ciclasa de las preparaciones subcelulares,[19] una acción sobre la AMP fosfodiesterasa cíclica[22] puede también determinar la disminución del AMP cíclico celular. Sin embargo, algunos efectos de la insulina sobre los procesos de transporte no han sido explicados adecuadamente, tomando en cuenta el AMP cíclico y en algunas circunstancias (ausencia de sustancias con elevado contenido de AMP cíclico) la acción de la insulina no puede ser relacionada con una disminución considerable de las concentraciones intracelulares de AMP cíclico. La reciente demostración de que la insulina (y los fármacos colinérgicos) determinan ostensible aumento de las concentraciones de GMP cíclico, puede contribuir a explicar los mecanismos por los cuales la insulina modula la actividad metabólica. Se ha lanzado la hipótesis[21] según la cual un receptor insulínico único (o receptor hormonal colinérgico) reacciona sobre la membrana celular, pudiendo transformar la especificidad del sustrato de la adenil-ciclasa localizada en la membrana de suerte que cambie su preferencia por GTP en lugar de ATP. El mismo sistema enzimático localizado en la membrana puede ser responsable de la síntesis de ambos nucleótidos, y "el equilibrio" de la utilización de ATP o GTP por la enzima dependería de la captación de estos receptores en favor de la forma ATP (hormonas adrenérgicas, glucagon, etc.) a diferencia de la captación de aquellos receptores en favor de la forma GTP (insulina, hormonas colinérgicas). Esto podría explicar la inhibición "simultánea" de la actividad de la adenil-ciclasa y del aumento del GMP cíclico (facilitación de la síntesis) por interacción única sobre el receptor

hormonal. Esta hipótesis es atractiva porque, con ella, es posible explicar los efectos de la insulina (y los de las hormonas colinérgicas) en un contexto "unitario" que englobaría los dos nucleótidos cíclicos como mediadores químicos "iniciales". Recientemente se han aducido experiencias que demuestran existe una guanil-ciclasa localizada en la membrana de preparaciones de membranas aisladas cuya actividad fue estimulada directamente con insulina y concanavalina A.[23]

Una de las perspectivas más atractivas para las investigaciones futuras, en el campo de los receptores hormonales de las membranas, consiste en dilucidar los mecanismos precisos mediante los cuales los complejos receptores hormonales, una vez formados, modifican la actividad de las enzimas específicas o estructuras de transporte localizadas en la membrana. Antes se aceptaba que los receptores poseían funciones específicas y separadas, (por. ej., ionóforos de los receptores para acetilcolina), o que los receptores se situan en contigüidad con moléculas provistas de funciones específicas (v. gr., adenil-ciclasa para las hormonas peptídicas). En realidad no son necesarios tales supuestos, ya que puede ofrecer ventajas disponer de receptores que, en su forma elemental, se hallen totalmente separados de otras macromoléculas de la membrana. En esta teoría,[1,24] el receptor asu-

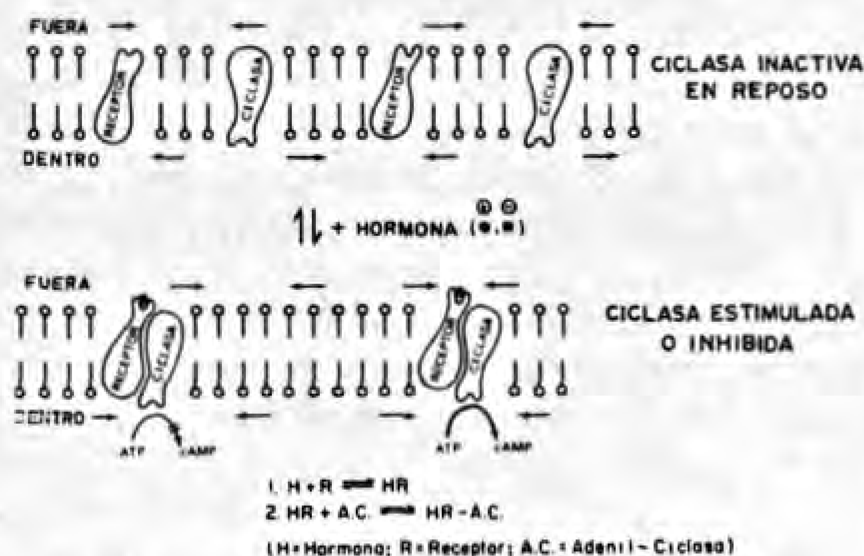


Figura 1. Representación de la hipótesis del doble-paso para explicar el mecanismo de modulación hormonal en la membrana de la adenil ciclasa (1). Su carácter distintivo consiste en que los receptores y la enzima son estructuras diferentes que adquieren especificidad y afinidad para formar el complejo solo después de que el receptor ha sido ocupado por la hormona. Estas estructuras pueden combinarse, consecutivamente a la captación de la hormona, merced a la fluidez de las membranas celulares. Los puntos de unión del receptor hállanse situados en la superficie externa, en contacto con el medio acuoso, y el foco catalítico de la enzima está encarado hacia el interior, en el linde del citoplasma celular.

me nuevas propiedades de unión en su ligando específico; una de estas nuevas propiedades podría ser su afinidad especial para la unión con otras estructuras de la membrana, tales como la adenil-ciclasa (Fig. 1). De esta suerte actuaría un mecanismo de doble paso, que en realidad refleja el punto de vista actual,[25] que considera las membranas biológicas como estructuras fluídas que permiten la difusión de moléculas con relativa facilidad en la superficie de la membrana. Esta disposición favorecería interacciones específicas consecutivas en la membrana, de modo análogo a lo que acontece con las moléculas en una solución acuosa, dejando de lado las diferentes características de difusión y las limitaciones que dependen de la membrana misma. Esta hipótesis del doble paso a través de la membrana puede contribuir a explicar las aparentes contradicciones que se advierten en las acciones hormonales, ya que la propia insulina puede modificar ciertos procesos de la membrana, quizá distintos, actuando sobre un solo receptor, y muchas otras hormonas actuando sobre receptores independientes pueden modificar la adenil-ciclasa de una célula determinada.[1,24] De estas consideraciones derivan importantes sugerencias para comprender y predecir las propiedades y cinética de la interacción de las hormonas con los receptores de las membranas.

Las investigaciones actuales acerca del mecanismo de acción de la toxina del cólera,[24,26,27] demuestran que esta proteína interactúa con los gangliósidos de la membrana celular para estimular la actividad de la adenil-ciclasa de manera semejante a lo observado con las hormonas peptídicas. Se ha comprobado que el complejo receptor tóxico-gangliósido, inicialmente inactivo, se transforma en activo en un lapso y temperatura dependientes de cambios producidos en la membrana. El complejo activo, por mecanismos vinculados a la difusión lateral en el plano bidimensional de la membrana, se asocia e interactúa con la adenil-ciclasa (Fig. 2). La toxina del cólera suministra un modelo excelente para el estudio de estas cuestiones y para explorar problemas de crecimiento y diferenciación celular.[14,27,28]

Para estudiar la interacción de estas hormonas con las superficies celulares han sido utilizados derivados insolubles de hormonas peptídicas, tales como agar-insulina.[19] En condiciones experimentales adecuadas, eliminando la ruptura del ligando del sustrato, las actividades biológi-

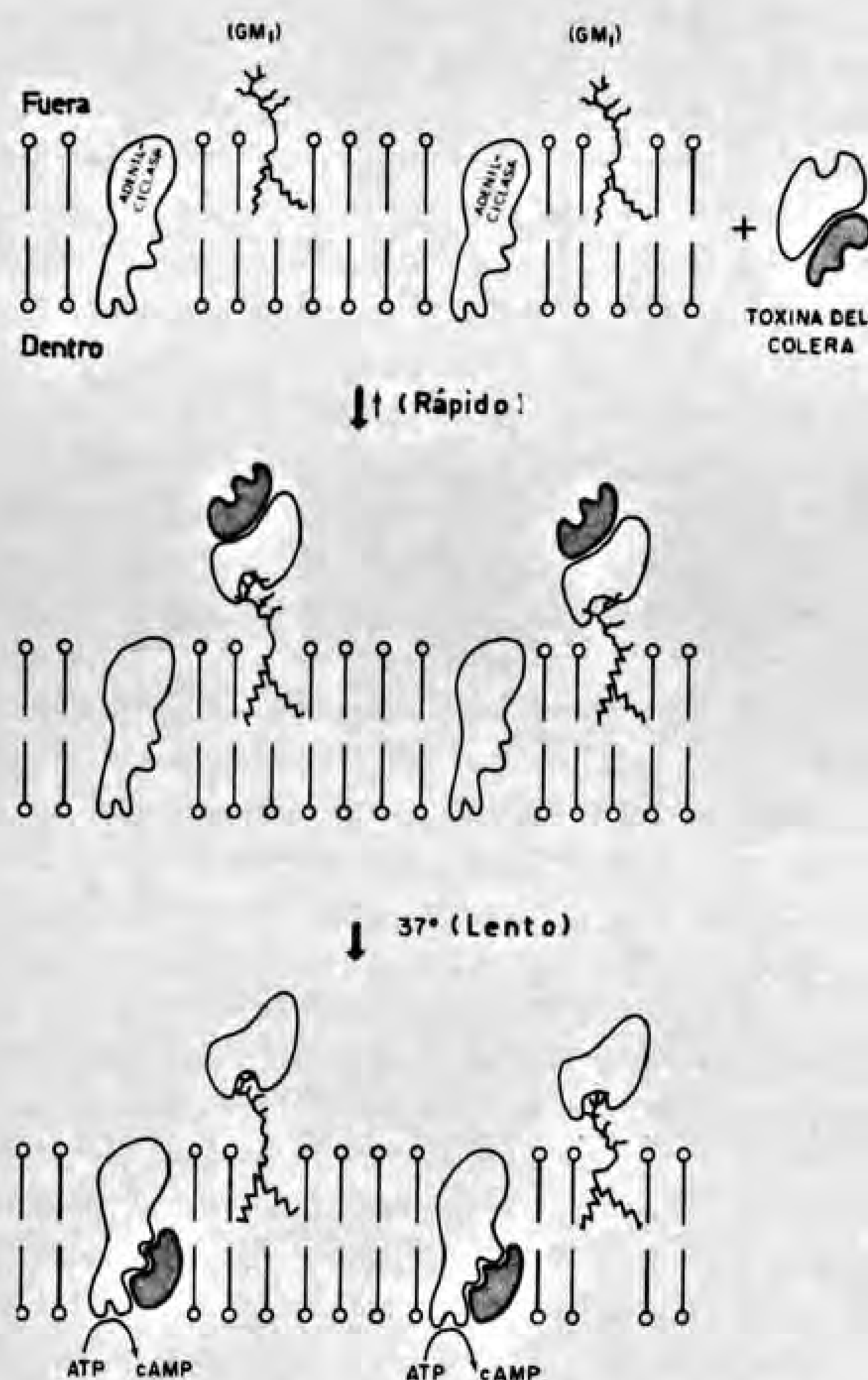


Figura 2. Mecanismo propuesto para la activación de la adenil ciclasa de la membrana celular por la toxina del cólera (24).

cas de alguno de estos derivados pueden ser verificadas si se utilizan preparaciones de células aisladas. Por ejemplo, el agar-insulina puede estimular las células grasas[29] y ciertos polímeros macromoleculares solubles, como el dextrán-insulina, son activos *in vivo* disminuyendo los niveles del azúcar sanguíneo y promoviendo la actividad de las enzimas hepáticas.[30] Aunque las actividades de los derivados polímero-hormonales se asemejan a las del ligando activo asociado, se pueden observar, en algunos casos, diferencias cualitativas y cuantitativas. Por ej., el agar-insulina puede activar las células grasas con menos contactos que la hormona nativa, y en estos aspectos desarrollan mayor potencia que la propia insulina. De modo semejante, los derivados dextrán-insulina muestran mayor actividad que la hormona pura. Es oportuno señalar que el factor mesenquimal "peptídico" es mucho más potente, sobre la proliferación celular y la citodiferenciación de los epitelios pancreáticos de rata, cuando se une en forma covalente con agar que cuando actúa en solución sin agar.[31] La actividad se manifiesta cuando se añaden únicamente veinte partículas de aquellos derivados al epitelio.

Las células de las glándulas mamarias de ratones vírgenes no responden (transporte ácido-alfa-amino-isobutílico) a la insulina pura; sin embargo, responden a la preparación agar-insulina y esta actividad puede ser bloqueada mediante insulina pura.[32]

Resultados similares han sido obtenidos con derivados de la fitohemaglutinina (FHA) y concanavalina A.[33,34] Los linfocitos-B de ratón, que no suelen responder (síntesis ADN) a la FHA soluble ni a la concanavalina A, reaccionan positivamente con los derivados de agar-lectina. Estos resultados indican no solamente la localización de los receptores para estas sustancias y hormonas en el plasma de la membrana, sino que sugieren también que las respuestas tradicionalmente aceptadas de estos receptores son manejables por polímeros farmacológicos actuando en la superficie de la célula.

La presencia de receptores en la superficie celular ha sido ratificada por observaciones microscópicas directas de células y partículas de agar portadoras de hormonas específicas. Esto pudo ser demostrado utilizando células grasas y agar-insulina[35] y también leucocitos y partículas de agar conteniendo histamina y norepinefrina.[36] Partículas de vidrio impregnadas con catecolaminas pueden estimular directamente las células miocárdicas.[37]

La interacción de compuestos con ligandos insolubles y receptores celulares puede diferir sustancialmente de las que se producen con ligandos solubles. Aunque este hecho pueda complicar la interpretación de los datos basados en la comparación con ligandos monovalentes, también ofrece nuevas posibilidades para explorar los fenómenos adscritos a los receptores situados sobre las superficies celulares; por ejemplo, pueden ser utilizadas para estudiar la difusión lateral y sus consecuencias biológicas, la migración, agregación e inclusión, así como otros efectos dinámicos de los receptores en la superficie de la membrana.

Referencias

1. Cuatrecasas, P., *Ann. Rev. Biochem.*, **43**, en prensa, 1974.

2. Hollenberg, M. D. y P. Cuatrecasas, *Biochem. Action of Hormones*, ed. G. Litwack, Academic Press, en prensa.

3. LEFKOWITZ, R. J., G. SHARP y E. HABER, *J. Biol. Chem.*, **248**, 342, 1973.

4. CUATRECASAS, P., G. P. E. TELL, V. SICA, I. PARIKH y K.-J. CHANG, *Nature*, **247**, 92, 1974.

5. ROTH, J., *Metabolism*, **22**, 1059, 1973.

6. CUATRECASAS, P., *Fed. Proc.*, **32**, 1838, 1973.

7. VAN LENTEN, L. y G. ASHWELL, *J. Biol. Chem.*, **247**, 4633, 1972.

8. KOHN, C. R., D. M. NEVILLE y J. ROTH, *J. Biol. Chem.*, **248**, 244, 1973.

9. BENNETT, V. y P. CUATRECASAS, *Science*, 176, 805, 1972.

10. CHANG, K-J. y P. CUATRECASAS, *J. Biol Chem.*, en prensa.

11. GAVIN, J. R. III, P. GORDEN, J. ROTH, J. ARCHER y D. N. BUELL, *J. Biol. Chem.*, **248**, 2202, 1973.

12. KRUG, U., F. KRUG y P. CUATRECASAS, *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A.*, **69**, 2604, 1972.

13. HOLLENBERG, M. D. y P. CUATRECASAS, *Control of Proliferation in Animal Cells*, eds. B. Clarkson, R. Baserga, Cold Spring Harbor, New York, 214 pp., 1974.

14. HOLLENBERG, M. D. y P. CUATRECASAS, *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A.*, **70**, 2964, 1973.

15. SCLOFF, M., T. SWARTZ, M. MORRISON y M. SAFFRAN, *Endocrinology*, **92**, 104, 1973; BOCKAERT, J., M. IMBERT, S. JARD, y F. MOREL, *Molec. Pharmac.* **8**, 230, 1972.

16. SHIU, R. P. C., P. A. KELLY y H. G. FRIESEN, *Science*, **180**, 968, 1973.

17. DEBUQUOIS, B., communicación personal.

18. CUATRECASAS, P. y G. P. E. TELL, *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A.*, **70**, 485, 1973; CUATRECASAS, P., *J. Biol. Chem.*, **248**, 3528, 1973

19. HAPP, K. D., *FEBS Lett.*, **20**, 191 (1972); Illiano, G. y P. CUATRECASAS, *Science*, **72**, 906, 1972; DEASUA, L. J., E. S. SURIAN, M. M. FLAWIA y H. M. TORRES, *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A.*, **70**, 1388, 1973; M. M. FLAWIA y H. M. TORRES, *J. Biol. Chem.*, **248**, 4517, 1973.

20. HADDEN, J. W., E. M. HADDEN, M. K. HADDOX y N. D., GOLDBERG, *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A.*, **69**, 3024, 1972.

21. ILLIANO, G., G. P. E. TELL, M. I. SIEGEL y P. CUATRECASAS, *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A.*, **70**, 2443, 1973.

22. LOTEN, E. G. y J. G. T. SNEYD, *Biochem. J.*, **120**, 187, 1970; MANGANIELLO, V. y M. VAUGHAN, *J. Biol. Chem.*, **248**, 7164, 1973.

23. SIEGEL, M. I. y P. CUATRECASAS, manuscrito en preparación.

24. CUATRECASAS, P. y V. BENNETT, *Proceedings of Symposium on Perspectives in Membrane Biology*, Mexico City, January, 1974, en prensa.

25. SINGER, S. J. y G. L. NICOLSON, *Science*, **175**, 720, 1972.

26. CUATRECASAS, P., *Biochemistry*, **12**, 3547, 1973.

27. CUATRECASAS, P., *Biochemistry*, **12**, 3558, 1973.

28. O'KEEFE, E. y P. CUATRECASAS, *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A.*, en prensa, 1974.

29. CUATRECASAS, P., *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A.*, **63**, 450, 1969.

30. ARMSTRONG, K. J., M. W. WOALL y J. E. STOUFFER, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **47**, 354, 1972; SUZUKI, F., M. DAIKUHARA y M. ONO, *Endocrinology*, **90**, 1220, 1972; TARUI, S., Y. SAITO, F. SUZUKI e Y. TAKEDA, *Endocrinology*, **91**, 1442, 1972.

31. LEVINE, S., R. PICTET y W. J. RUTTER, *Nature New Biology*, **246**, 49, 1973.

32. OKA, T. e Y. J. TOPPER, *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A.*, **68**, 2066, 1971; OKA, T. e Y. J. TOPPER, *Nature New Biol.*, **239**, 216, 1972.

33. GREAVES, M. F. y S. BAUMINGER, *Nature New Biol.*, **235**, 67, 1972.

34. ANDERSSON, J., G. M. EDELMAN, G. MOLLER y O. SJOBERG, *Eur. J. Immunol.*, **2**, 233, 1972.

35. SUDERMAN, D. D., J. GERMERSHAUSEN y H. M. KATZEN, *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A.*, **70**, 792, 1973.

36 MALMON, K. L., H. R. BOURNE, J. WEINSTEIN y M. SELA, *Science*, **177**, 707, 1972.

37. VENTER, J. C., J. E. DIXON, P. R. MAROKO y N. O. KAPLAN, *Proc Nat. Acad. Sci. U. S. A.*, **69**, 1141, 1972.

CIENCIA, MÉX.
15, Diciembre, 1975
XXIX (3-4) 213-227

LA HIPERGLUCEMIA EXPERIMENTAL EN EL ACOCIL

PROCAMBARUS BOUVIERI (ORTMANN)

J. Puche, Y. Berdeja y D. López

Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México
México, D. F.

Resumen

Hemos establecido los valores básicos de azúcar reductor en la hemolinfa de *Procambarus bouvieri* para comprobar en ellos las variaciones glucémicas en distintas situaciones experimentales. Se utilizaron diversos estímulos glucemiantes: asfixia, sangría, adrenalina, aloxana, serotonina y glucagon en animales íntegros y en animales destallizados. Las respuestas glucemiantes a estos estímulos se producen siempre en los animales íntegros y sólo eventualmente, como sucede con el glucagon y con los extractos de tallo, en los destallizados. Las pruebas de tolerancia a la administración de glucosa presentan curvas semejantes a las que muestran los mamíferos, pero los mecanismos de regulación difieren radicalmente de los conocidos en éstos. La asimilación de la glucosa administrada se produce en el término de 2 a 4 horas con las dosis de 1 mg/g y en períodos más largos con las dosis mayores. El almacenamiento y la distribución se realiza a través de varios órganos con la intervención de conjuntos enzimáticos.

Summary

We have determined the basic values of blood sugar in *Procambarus bouvieri*, in order to test the glycemic levels for different experimental conditions. We made use of various glycemic stimulations (asphyxia, bleeding, adrenalin, aloxane, serotonin, and glucagon) in normal animals, and in eyestalkless animals. These stimulations caused always hyperglycemic responses in the normal animals, and eventually succeed with glucagon in the eyestalkless animals. The eyestalk extracts produce constantly hyperglycemic responses in the eyestalkless. The tests of glucose tolerance in *Procambarus* gave very similar curves to those tolerance curves of the mammalians, even though their control mechanisms are different. The assimilation of glucose through parenteral administration, is accomplished into 2 to 4 hours with doses of 1 mg/g and in more extended periods with greater doses. We assume that the storage and distribution of sugar is fulfilled in various organs through reactions of the enzimatic systems.

La glucosa circulante en el organismo llega a la intimidad de los tejidos, a través de la sangre y del medio interno, para incorporarse mediante procesos activos al metabolismo celular. En los mamíferos y en muchos vertebrados la glucosa sanguínea se mantiene a concentraciones relativamente constantes. Sin embargo, el mantenimiento de la glucemia normal es compatible con discretas oscilaciones que aparecen durante los períodos prandiales y el ejercicio muscular; puede también ser influida por cambios ambientales que afecten sus ritmos biológicos.

Estas oscilaciones se atenuan cuando el sujeto normal se encuentra en reposo, en ayunas y protegido ante eventuales estímulos externos o internos. Pero, aún lograda esta estabilización de la normalidad, habrá que tener en cuenta otras circunstancias dependientes de la individualidad, de la especie animal elegida, de los métodos utilizados, de las manipulaciones, del estado emocional, etc. Una vez acotados los valores normales podremos explorar con provecho las variaciones producidas experimentalmente.

El estudio de la hiperglucemia experimental ofrece perspectivas muy interesantes. En primer término por la importancia que tienen la glucosa y sus derivados inmediatos en el metabolismo orgánico; por la cesión rápida de su contenido energético; por sus propiedades anfibólicas y por su intervención en algunos procesos de síntesis y de ahorro de otros compuestos orgánicos de mayor complejidad. También nos permite explorar el funcionamiento de los órganos que intervienen en su regulación, así como la viabilidad de sus rutas metabólicas.

Finalmente, las variaciones significativas del

nivel glucémico pueden constituir señales valiosas para valorar situaciones de emergencia, descargas neurohumorales y capacidad de respuesta. Diríamos que las alteraciones de la glucemia pudieran considerarse como una vía común final reveladora del funcionamiento equilibrado del SNC.

El privilegio de haber sido asiduo colaborador del Maestro Pi Suñer en este campo de investigación, al que aportó lúcidas hipótesis e importantes esclarecimientos, nos autoriza para seleccionar una breve referencia bibliográfica de algunas investigaciones realizadas exclusivamente en mamíferos y que ahora, al ser confrontadas con las obtenidas en otras especies animales muy distantes de aquellos, quizá nos permita una apreciación más certera de su íntimo significado.[1-16]

La lectura de los trabajos de Prosser[17] y de Watermann[18] nos incitaron a seguir las orientaciones señaladas por Wiersma, Florey, Bullock y sus seguidores[19], sintetizadas en la exhortación de Young* coincidente con nuestro propósito actual.

Martín[20] reune un valioso conjunto de colaboraciones que nos interesaron de inmediato por su analogía con los trabajos que enunciamos. Tratamos de comprobar las observaciones aducidas y, con nuestros colaboradores, hallamos algunos hechos nuevos[21-31] de los que daremos cuenta en este trabajo y en otros que habrán de seguir.

Material y Métodos

Utilizamos cambarinos de la especie *Procambarus bouvieri* (Ortmann), (Crustacea, Decapoda) procedentes de Uruapan (Michoacán, México). Después de su captura fueron seleccionados teniendo en cuenta su peso, fase de muda y sexo, acomodándolos en recipientes de plástico con agua corriente y aireacción, a temperaturas de 10° a 24°, exceptuando los meses de invierno, en los que osciló entre 2° y 16°.

El peso de los ejemplares utilizados fue de 12 a 30 g. La extracción de hemolinfa se realizó casi siempre a través de la membrana de una de las patas ambulatorias y otras veces de la membrana de la quela; la aguja de 27 gauge se introdujo con inclinación de 30 a 40 grados, precaución que facilita la hemostasia, la cual se asegura aplicando sobre la membrana algodón o papel filtro humedecidos con alcohol.

Las muestras de hemolinfa (0.2 ml se diluyen en (3 ml) de agua destilada y se procede a la desproteinización con 0.4 ml de sol. 2/3 de OH_2Ba y 0.4 ml de sulfato de zinc al 5%, de acuerdo con las directrices del método de Somogyi-Nelson, en el que introducimos algunas modificaciones. Empleamos 2 ml de filtrado y 2 ml del nuevo reactivo de Somogyi y ebullición durante 20 minutos, para compensar los efectos de la presión atmosférica en que habitamos (580 mm Hg). Después de enfriar las muestras, se añade el reactivo de Nelson. Cinco minutos después se diluye hasta 12-5 ml para la lectura colorimétrica con filtro rojo.

La mayor parte de nuestras observaciones han sido realizadas siguiendo este método, con excelentes resultados. En otras, más recientes, utilizamos el método de la oxidasa y, no encontrando grandes diferencias ni ventajas, optamos por seguir con el método original.

Determinación de los valores glucémicos normales

La determinación del "azúcar" en la hemolinfa de los crustáceos ha sido objeto de múltiples investigaciones. Florkin[9] agrupa los valores obtenidos por distintos autores en un cuadro en el que se aprecia gran heterogeneidad en los resultados que aduce atribuibles, entre otras causas, a las distintas especies exploradas, a los métodos utilizados y a la poca precisión sobre los factores que pueden modificar estos valores.

Nuestras determinaciones, se expresan invariablemente en mg % de glucosa; pero no podemos excluir la coexistencia con alguna otra substancia reductora.

Antes de iniciar nuestros trabajos procuramos establecer los valores básicos de la glucosa en la especie de cambarinos elegida. Este propósito nos llevó algún tiempo, ya que las primeras observaciones dieron valores muy dispersos, que fuimos clasificando de acuerdo con los determinantes que siguen: captura en ambiente natural, transporte, instalación en el laboratorio, manipulación y variaciones ambientales; temperatura y presión atmosférica. Para excluir los factores perturbadores más importantes, realizamos observaciones en el ambiente natural, en las orillas y remansos de agua con vegetación y plancton abundantes. Estos valores fueron muy dispares. También lo fueron los obtenidos, en sucesivos lotes, al llegar al laboratorio, aun después de separar los ejemplares que parecían más afectados por el transporte. Una vez aposentados en recipientes adecuados y lotes reducidos (70 a 120 cm^2 por animal) con agua limpia, burbujeo de aire y en ayuno, de 24 a 48 horas se estabilizan los valores. En el Cuadro I se concentran los resultados obtenidos. Al prolongar el ayuno, los valores glucémicos disminuyen gradualmente, como indica el Cuadro II.

Para iniciar nuestros experimentos elegimos como período razonable de ayuno períodos de 48 a 72 horas, ya que los ejemplares afectados por ayunos muy prolongados, al disminuir sus reservas alimentarias y modificar

CUADRO I

SITUACION DE LOS EJEMPLARES	NUMERO	PROMEDIO EN mg % DE AZUCAR EN SANGRE
MEDIO NATURAL	29	17 73 ± 1.03
RECIEN LLEGADOS AL LABORATORIO	152	22 49 ± 0 67
AYUNOS DE 24 a 48 hrs	478	4 60 ± 0 15

* "Rather then taking fright at the semantic problems that they present, we should hope that by comparative studies we may able to contribute to solving them."

CUADRO II

ANIMALES EN AYUNO PROLONGADO	NUMERO	PROMEDIO EN mg% DE AZUCAR EN SANGRE
24 a 48 hrs	478	4.60±0.15
3 DIAS	130	3.70±0.27
5 DIAS	156	2.94±0.50
10 DIAS	96	2.85±0.31
30 DIAS	87	2.18±0.23

su metabolismo, responden a los estímulos utilizados con menor intensidad y, proporcionan resultados contradictorios o poco significativos (Cuadro II). Para obviar estas dificultades es aconsejable alimentar algunos días consecutivos a los animales que deban ser utilizados y, después de esta restauración, dejarlos 48 a 72 horas en ayunas.

Resultados

I. Efectos de la sangría

En los experimentos que requieren obtención de varias muestras de hemolinfa, habrá que tener en cuenta que esta manipulación puede determinar hiperglucemia; así lo observaron Florkin y Duchateau[32] y lo hemos podido confirmar. En nuestras primeras observaciones sobre los efectos glucemiantes de la sangría, mantuvimos a los acociles algún tiempo fuera del agua; esta circunstancia pudo contribuir, por desecación y asfixia ligeras, a incrementar los efectos de la extracción de sangre. Igualmente debe considerarse como estímulo perturbador la manipulación y los pinchazos repetidos.

Nuestros experimentos de sangría parecen indicar alguna diferencia en la respuesta glucemiante cuando la sangría es intermitente y reiterada a cuando ésta se produce de una sola vez (Cuadros III y IV). En el primer caso las respuestas son graduadas y en la sangría aguda la respuesta más abrupta. La hiperglucemia se hace más evidente cuando la extracción de hemolinfa alcanza o suma proporciones equivalentes del 6 al 10% del peso total del acocil. Es muy posible que la influencia de la sangría seriada quepa atribuirla a varios factores asociados.

II. Hiperglucemia por asfixia

Stott[33] observa hiperglucemia después de la asfixia en *Cancer pagurus, Carcinus maenas* y *Macropipus puber;* Roche y Dumazert[34] en *Cancer pagurus* y Kleinholz y Little[35] en *Callinectes sapidus* y *Astacus trowbridgii*

CUADRO III

ANIMALES DE EXPERIMENTACION		SANGRIA SUCESIVA			PROMEDIO EN mg % DE AZUCAR EN SANGRE	
ESTADO	NUMERO DE MUESTRAS	EXTRACCION TOTAL	PESO	% EXTRACCION	ANTES	DESPUES
INTEGRO	4	0.5 cc	22.5g	2.2	2.20	33.00±3.87
INTEGRO	6	0.6 cc	17.5g	3.4	3.0	19.60±2.00
INTEGRO	6	1.2 cc	26.5g	4.5	8.0	24.20±3.00
INTEGRO	11	1.5 cc	41.5g	3.6	1.6	18.01±1.74
INTEGRO	8	1.6 cc	37.5g	4.3	7.5	10.32±1.23
INTEGRO	10	2.0 cc	30.0g	6.7	7.5	10.00±1.13

CUADRO IV

ANIMALES DE EXPERIMENTACION		SANGRIA			PROMEDIO EN mg % DE AZUCAR EN SANGRE	
ESTADO	NUMERO UTILIZADO	EXTRACCION AGUDA	PESO (g)	% EXTRACCION	ANTES	DESPUES
INTEGRO	1	0.8 cc	29.5	3	4.20	9.33
INTEGRO	1	0.9 cc	29.5	4	6.50	17.00
INTEGRO	1	1.0 cc	13.8	7.3	11.10	52.00
INTEGRO	1	1.2 cc	30.0	4	3.80	18.66
INTEGRO	1	1.6 cc	34.0	5	9.00	17.06
INTEGRO	1	1.8 cc	30.9	6	3.50	18.00
INTEGRO	1	3.4 cc	30.4	11	11.00	24.66

obtienen idénticos efectos. Estos últimos precisan que las respuestas glucemiantes de la asfixia no se manifiestan en los animales destallizados. Nuestras observaciones[22] coinciden con las aducidas por los autores antes citados, como puede apreciarse en el Cuadro V.

Utilizando la técnica de la asfixia fuera del agua,[23] pudimos comprobar que los efectos de la desecación no corrían parejos con los determinados por la asfixia. Es posible que los efectos glucemiantes de la sangría seriada puedan sumarse como factores asociados.

III. Destallización

La glucemia se altera poco después de la destallización. Acaso se produzcan descensos similares a los que los acociles manifiestan en el ayuno prolongado. Los animales destallizados muéstranse más vulnerables a toda clase de estímulos y a las manipulaciones, pero ya no responden a los estímulos con efectos hiperglucemiantes.

Varios autores[36-38] han observado acortamiento del período de intermuda o inducción de la misma e incremento del consumo normal de oxígeno. Las curvas de tolerancia a la glucosa muestran valores más bajos.[39] La conducta alimentaria se modifica de inmediato.[28] Todos estos efectos se explican por la presencia de las hormonas contenidas en el tallo[40,41] o por liberación de mecanismos neurales.[28]

IV. Hiperglucemias producidas por substancias químicas

a. *Adrenalina*

Repetimos las observaciones de distintos investigadores[32,34,42,43,45] que utilizaron adrenalina con efectos hiperglucemiantes. El Cuadro VI resume nuestros resultados en los que no se aprecia relación consistente entre la dosis inyectada y la respuesta glucemiante.

b. *Aloxana*

El efecto hiperglucemiante de la aloxana ha sido ampliamente investigado en distintos mamíferos, nunca que sepamos en los invertebrados. Su mecanismo de acción sobre las células de los islotes pancreáticos es bien conocida. Chavin y Young[44] han estudiado sus efectos en peces. Por nuestra parte[22] dimos a conocer la respuesta glucemiante de esta substancia en el acocil. Los valores obtenidos quedan ordenados en el Cuadro VII.

c. *Serotonina*

Bauchau y Mengeot[45] observan respuestas glucemian-

CUADRO V

ANIMALES DE EXPERIMENTACION		ASFIXIA		PROMEDIO EN mg % DE AZUCAR EN SANGRE.	
ESTADO	NUMERO DE MUESTRAS	METODO	DURACION	ANTES	DESPUES
INTEGROS	12	AGUA	1 h	2.55±0.54	14.61± 2.70
INTEGROS	14	AGUA	2 hs	3.34±0.38	16.25± 2.14
INTEGROS	37	AIRE	1 h	6.13 ± 1.08	15.18± 1.73
INTEGROS	4	AIRE	5 hs	4.60±0.15	16.00± 9.11
DESTALLIZADOS	21	AIRE	1.80 hs	1.98±0.56	3.31 ± 0.57
DESTALLIZADOS	21	AIRE	3 hs	2.55±0.54	3.66± 0.42

CUADRO VI

ANIMALES DE EXPERIMENTACION		INYECCION ADRENALINA		PROMEDIO EN mg % DE AZUCAR EN SANGRE	
ESTADO	NUMERO DE MUESTRAS	CANTIDAD	CONCENTRACION	ANTES	DESPUES
INTEGROS	8	10 γ	1:1000	0.95±0.71	8.02± 0.63
INTEGROS	4	20 γ	1:1000	0	8.25± 2.04
INTEGROS	9	10 γ	1:1000	4.60± 0.15	14.33±4.89
INTEGROS	9	200 γ	1:1000	2.59 ± 0.82	15.24±3.29
DESTALLIZADOS	15	100 γ	1:1000	3.58± 0.40	2.39± 0.55
AYUNO PROL.	4	100 γ	1:1000	1.25± 0.47	3.92± 1.00

tes, con dosis de 0.1 a 0.2 ml de solución de serotonina al $1^{0}/_{00}$, en *Carcinus maenas* íntegros y destallizados.

Nosotros, con dosis análogas, obtuvimos en *Procambarus* los resultados tabulados en el Cuadro VIII, confirmatorios de la acción hiperglucemiante en animales normales, sin advertir dichos efectos, en grado significativo, en los destallizados.

d. Glucagon

Con anterioridad habíamos comunicado [25,31] los efectos hiperglucemiantes del glucagon en el acocil. Dosis de 2 a 3 microgramos por gramo de peso producen hiperglucemias semejantes a las obtenidas por la serotonina y la adrenalina. Las dosis más altas son mal toleradas y pueden producir efectos letales en el acocil.

En los animales destallizados se obtuvieron también respuestas glucemiantes, aunque menos expresivas que la que muestran los animales íntegros, lo que induce a pensar que este compuesto puede ejercer una doble acción; por una parte, la que pudiéramos denominar "efecto inespecífico", que hemos visto era dable poner de manifiesto por la acción de distintos compuestos o estímulos actuantes sobre el sistema neurosinusal y, además, a través de ciertas acciones enzimáticas, como las propuestas por Sutherland y cols.,[49] liberadora de glucosa a nivel celular. (Grafs. 1 y 2).

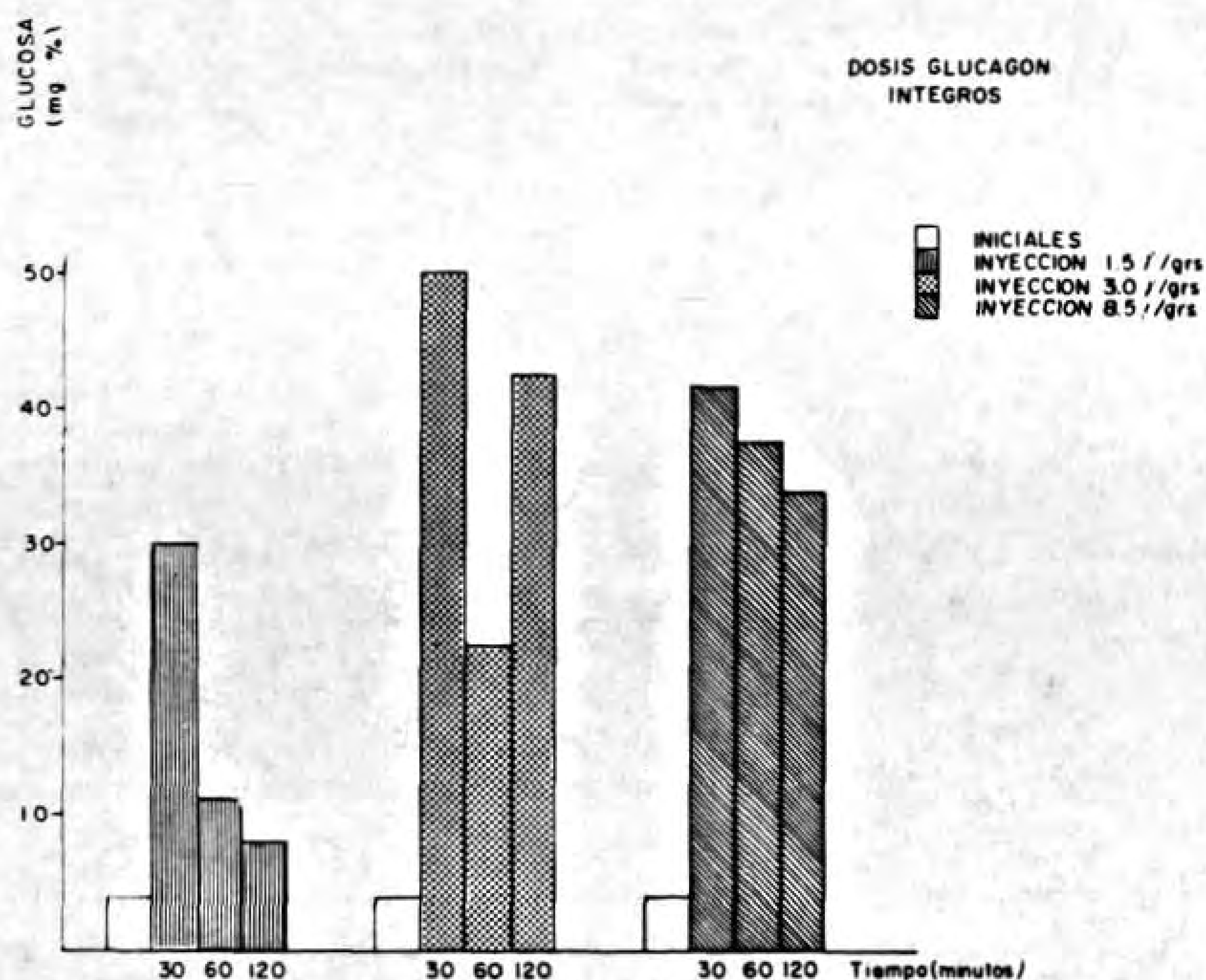
Esta evidente dualidad o complejidad de los mecanismos liberadores de glucosa, que se advierte en la acción del glucagon y que Soskin[9] plantea en los vertebrados al comentar las relaciones existentes entre los mecanismos de emergencia y los estrictamente metabólicos, nos animan a insistir utilizando técnicas y criterios análogos en el estudio de idénticos problemas. Volviendo a Soskin, este autor recomienda separar ambos mecanismos después de reconocer la mayor complejidad que ofrecen los de carácter metabólico. La regulación de los cambios bioquímicos se realiza fundamentalmente en la intimidad de los tejidos, a nivel celular. La intervención de los componentes neuroendocrinos representa, sin duda, un medio de ajuste elaborado para que los organismos más evolucionados puedan limitar su dependencia del medio externo. En cuanto a las respuestas de emergencia, conservarían la función de protejer los órganos y tejidos más diferenciados frente a los efectos vul-

CUADRO VII

ANIMALES DE EXPERIMENTACION		INYECCION ALOXANA		PROMEDIO EN mg % DE AZUCAR EN SANGRE	
ESTADO	NUMERO DE MUESTRAS	CANTIDAD	CONCENTRACION %	ANTES	DESPUES
INTEGROS	6	0.1 cc	1 %	5.83± 2.73	10.31± 7.04
INTEGROS	6	0.2 cc	1 %	5.83± 2.73	15.58± 4.48
INTEGROS	6	0.3 cc	1 %	5.83± 2.73	16.91± 3.42
INTEGROS	6	2 mg/g	5 %	7.83± 2.42	10.70± 1.24
INTEGROS	6	2 mg/g	5 %	7.83± 2.42	15.80± 3.03
INTEGROS	9	3 mg/g	4 %	5.41± 3.82	13.44± 1.37
INTEGROS	9	4 mg/g	4 %	5.41± 3.82	13.08± 1.38
DESTALLIZADOS	8	2.0 mg/g	3 %	1.81± 0.79	2.68± 0.94
DESTALLIZADOS	8	2.0 mg/g	3 %	1.81± 0.79	2.23± 0.79

CUADRO VIII

ANIMALES DE EXPERIMENTACION		INYECCION SEROTONINA		PROMEDIO EN mg % DE AZUCAR EN SANGRE	
ESTADO	NUMERO DE MUESTRAS	CANTIDAD	CONCENTRACION	ANTES	DESPUES
INTEGROS	4	10 γ	1:1000	0.90± 0.32	29.75± 4.92
INTEGROS	4	10 γ	1:1000	7.10± 1.40	18.65± 2.92
DESTALLIZADOS	5	20 γ	1:1000	4.20± 0.49	3.58± 0.49
DESTALLIZADOS	6	30 γ	1:1000	4.20± 0.49	4.09± 1.00
DESTALLIZADOS	11	10 γ	1:1000	2.74± 0.51	1.12± 0.51
AYUNO PROL.	5	10 γ	1:1000	1.66± 0.08	3.18± 0.30

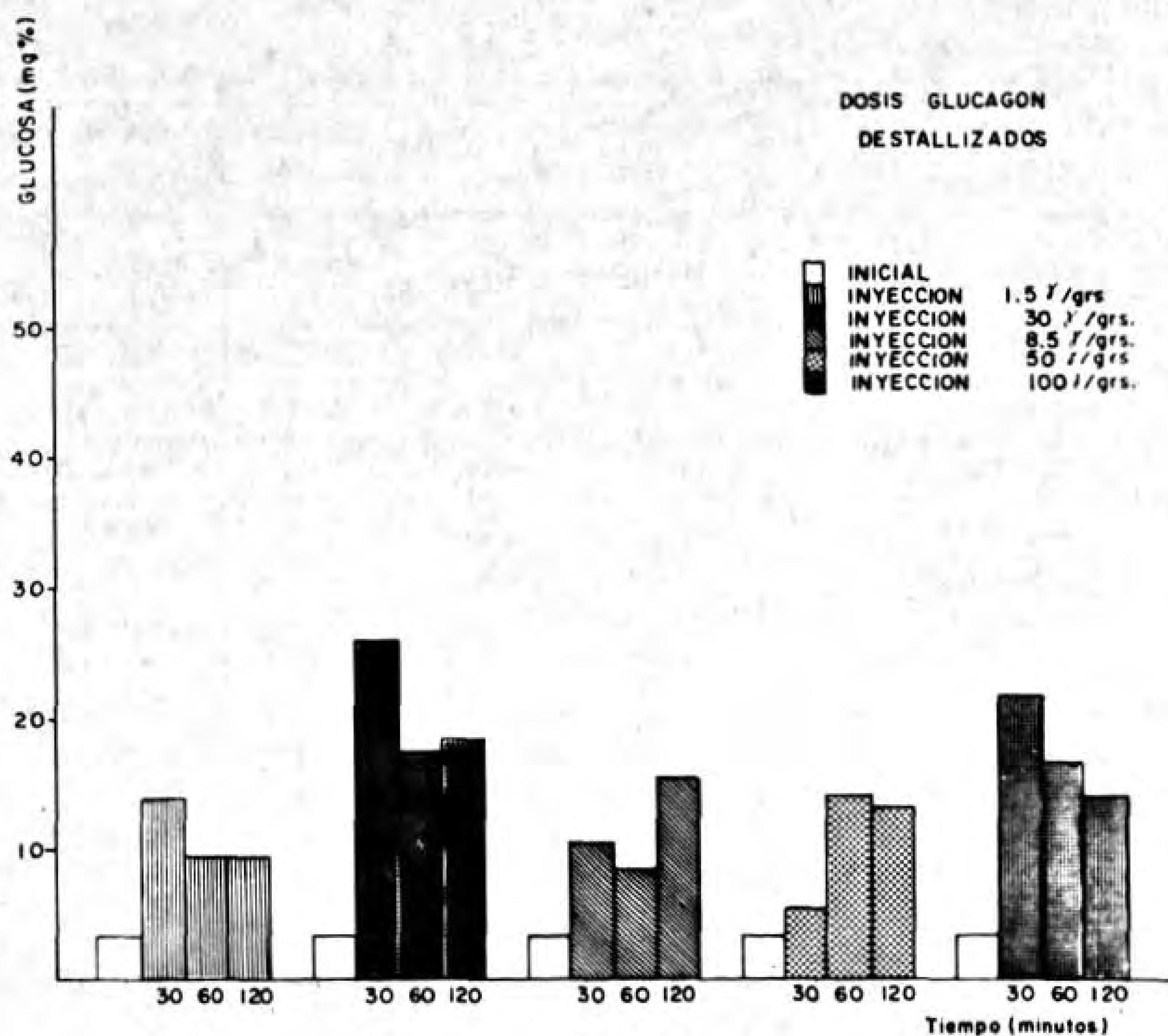


Gráf. 1

nerantes que las variaciones extremas de ciertos componentes orgánicos (glucosa, oxígeno CO_2, etc.) pudieran ejercer sobre ellos; sin embargo, en los invertebrados, lo que pudiéramos considerar como mecanismos neuroendocrinos de emergencia, aparecen menos complicados que los descritos en los mamíferos y más afines a todas las otras especies animales en las funciones referentes a la regulación a nivel celular.

En este contexto, nos pareció de grande interés explorar, en el acocil, las modalidades de la distribución y almacenamiento de metabolitos como la glucosa, comparándolos con lo que sucede en los mamíferos expuestos a circunstancias parecidas.

Con este propósito hemos tratado de verificar la tolerancia que muestra el acocil a la administración parenteral de distintas dosis y concentraciones de glucosa.



Gráf. 2

V. Pruebas de tolerancia a la glucosa en el acocil

En nuestras primeras observaciones utilizamos soluciones de glucosa en agua destilada al 5%, adjudicándole una presión osmótica aproximada a la osmolalidad de la hemolinfa del acocil hallada por distintos autores en diferentes especies de cambarinos de agua dulce: *Palaemonetes antenarius, Astacus fuviatilis, Procambarus clarkii,* etc.;[46-48] pero, pronto pudimos comprobar que, a pesar de la eficaz regulación de la osmolalidad que muestran los crustáceos de tipo *hiperosmótico,* nos fue fácil discernir amplias variaciones individuales, estacionales, nutricionales y otras de índole diversa.

Después de una serie de determinaciones de osmolalidad,[48] elegimos como la concentración más conveniente para nuestros acociles adultos, en períodos de intermuda, la sol. de glucosa al 7.5%.

Las dosis utilizadas fueron del 5%, 3%, 7.5% y 20%, que ofrecen distintas posibilidades de explorar la tolerancia a la glucosa con dosis parecidas a las que se utilizan en mamíferos 1g/Kg, reducidas en el acocil a 1 mg/g. Eventualmente administramos dosis y concentraciones mucho mayores, de 4 mg/g, en soluciones al 20%.

CURVAS GLUCEMICAS

a) *Acociles normales, sol. 5%*

A los 30' de la inyección parenteral de 1 mg/g de glucosa (en la membrana de una pata ambulatoria) alcanza los valores de glucosa más elevados de nuestras curvas. Este nivel se mantiene a los 60' y en algunos sujetos de nuestra casuística se inicia el descenso de la glucemia, más acelerado a los 120', recuperando los niveles iniciales a las 3 o 4 horas después de la administración de glucosa.

a₁) *Acociles destallizados, sol. 5%.*

El grupo de animales destallizados fue homogéneo en cuanto a número, peso, dosis y cronología de las muestras. Los resultados muestran marcadas diferencias respecto a los animales normales.

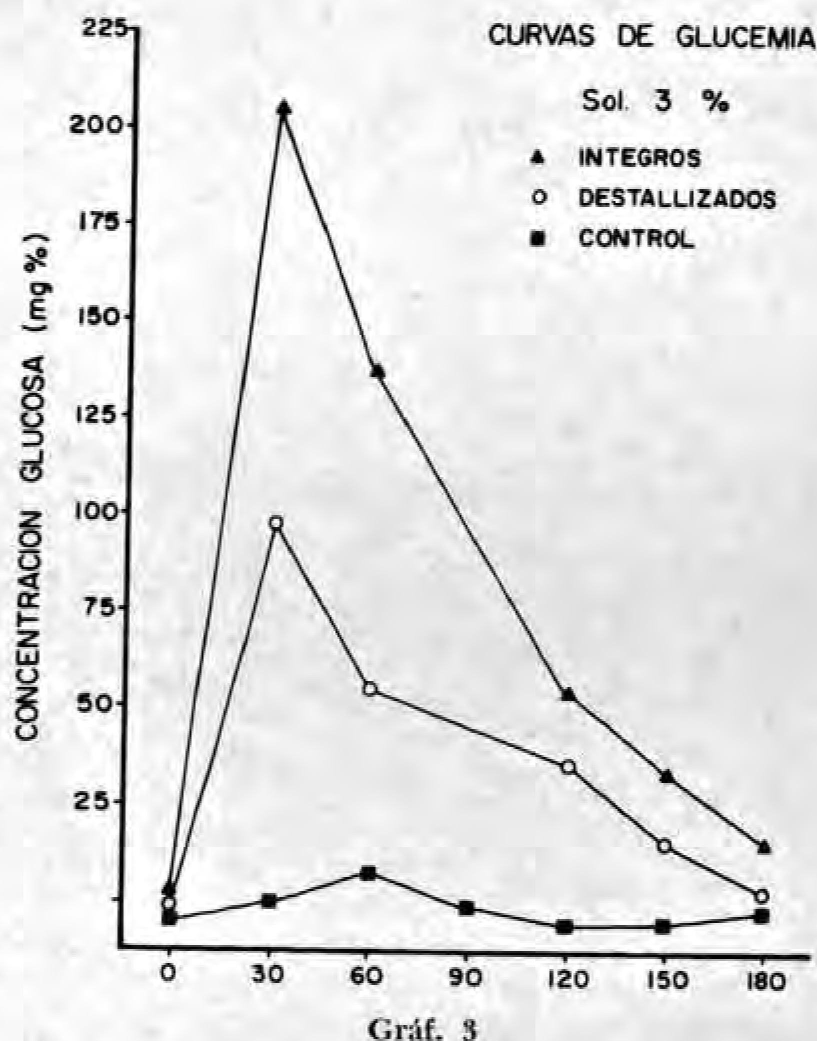
La hiperglucemia a los 30' es inferior a la de los normales y los valores consecutivos continúan siendo más bajos, llegando a los niveles iniciales antes que los acociles normales (Gráf. 4).

b) *Acociles normales, sol. 3%.*

En otra serie de acociles normales en idéntica situación experimental inyectamos la misma cantidad de glucosa 1 mg/g, a concentración aproximada de 150 miliosmol. En este grupo las glucemias iniciales fueron más bajas y la curva evolucionó a niveles inferiores recuperando los valores normales con mayor rapidez.

b₁) *Acociles destallizados, sol. 3%.*

Se repite en ellas el paralelismo al mostrar valores más bajos que los normales, y quizá el área que limita las diferencias con aquellos sea algo mayor, a pesar de que la cantidad de glucosa administrada es la misma en los dos grupos. (Gráfica 3).



Gráf. 3

c) *Acociles normales, sol. 7.5%.*

Las hiperglucemias obtenidas en este grupo muestran secuencia parecida a la del grupo con sol. al 5%. La dosis de glucosa inyectada fue la misma que en los grupos anteriores (1 mg/g).

c₁) *Acociles destallizados, sol. 7.5%.*

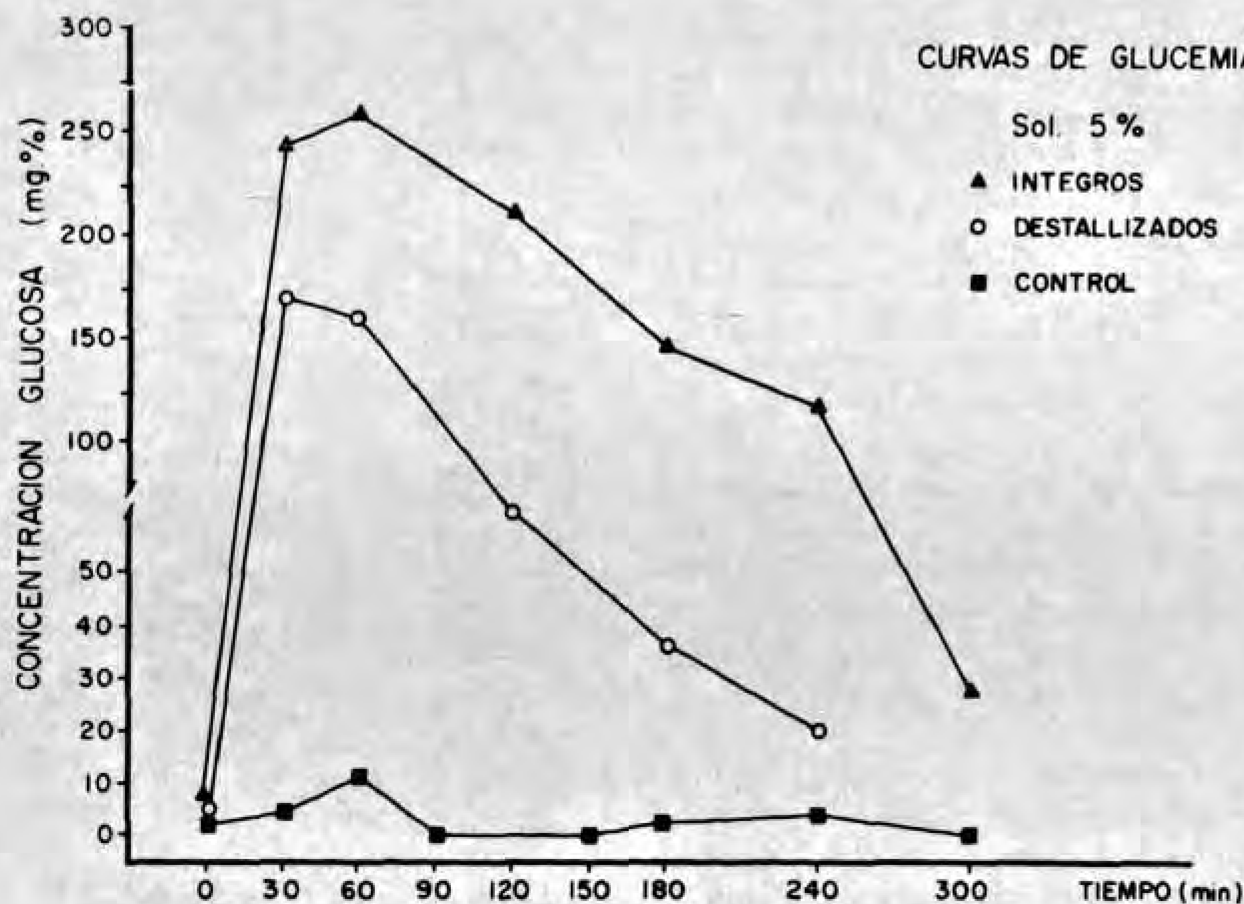
Los destallizados de este grupo mostraron algunas diferencias respecto a los grupos anteriores (Gráfica 5). Cabe señalar que las cifras registradas a los 30' fueron más altas, no sólo en los normales sino también en los destallizados, apareciendo agrandada el área comprendida entre los valores del grupo normal y los hallados en los destallizados.

Soluciones hipertónicas de glucosa

Después de obtenidos los resultados que anteceden, que muestran evidente congruencia, pasamos a explorar lo que acontece empleando soluciones más concentradas y dosis cuatro veces mayores: 4 mg/g. Pensamos que la intrusión de cantidades de glucosa varias veces superior a la osmolalidad normal de esta especie, situada entre 300 a 340 mOsm, pudiera suministrarnos información más completa de lo que tratamos de inquirir. La osmolalidad de la solución empleada 20%, nos dio un valor de 1320 mOsm.

d) *Acociles normales, sol. 20%.*

En varios lotes de acociles administramos por vía parenteral (en la membrana de pata ambulatoria) dosis de 4 mg/g de solución de glucosa al 20%. A estas concentraciones los acociles reaccionan con respuestas mo-



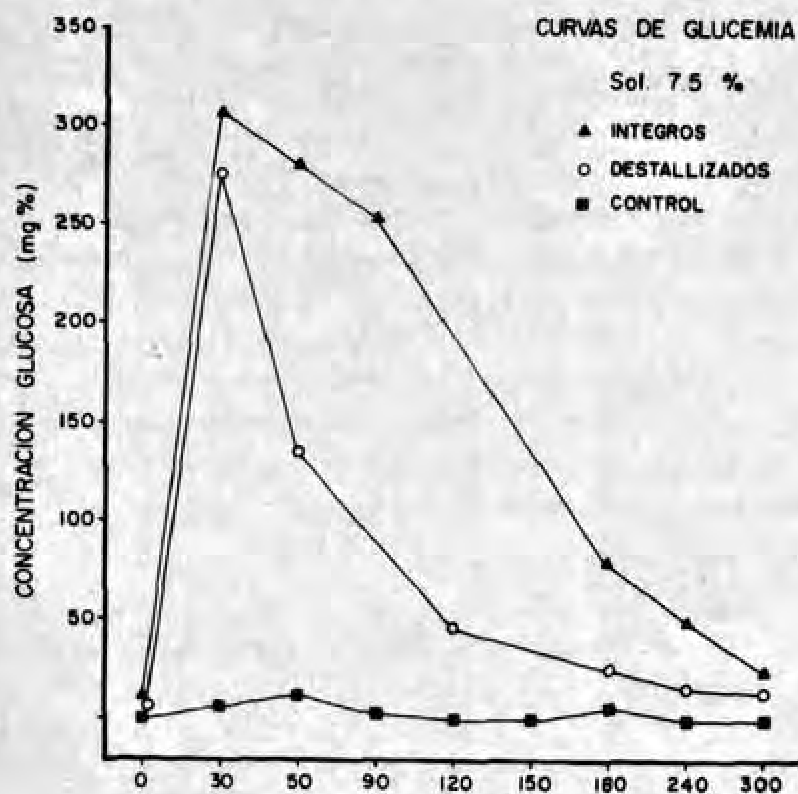
Gráf. 4

toras muy intensas, más evidentes con la inyección rápida. Además, los animales muestran, junto a la excitación motora, aumento de la frecuencia respiratoria y de la frecuencia cardíaca. En algunos se produjo cierto grado de protrusión ocular y otras manifestaciones anómalas, como contractura de los músculos, que persistían períodos variables (15' a 30').

Este síndrome se acompaña de glucemias que rebasan los 1200 mg% en las muestras de los 30' o 60'. La curva glucémica desciende más lentamente, para volver a los valores normales en horarios que oscilan entre las 8 horas después de la inyección y las 22 y 27 horas.

d_1) *Acociles destallizados, sol. 20%.*

En lotes comparativos, los resultados obtenidos con los destallizados presentaron comportamiento análogo al de



Gráf. 5

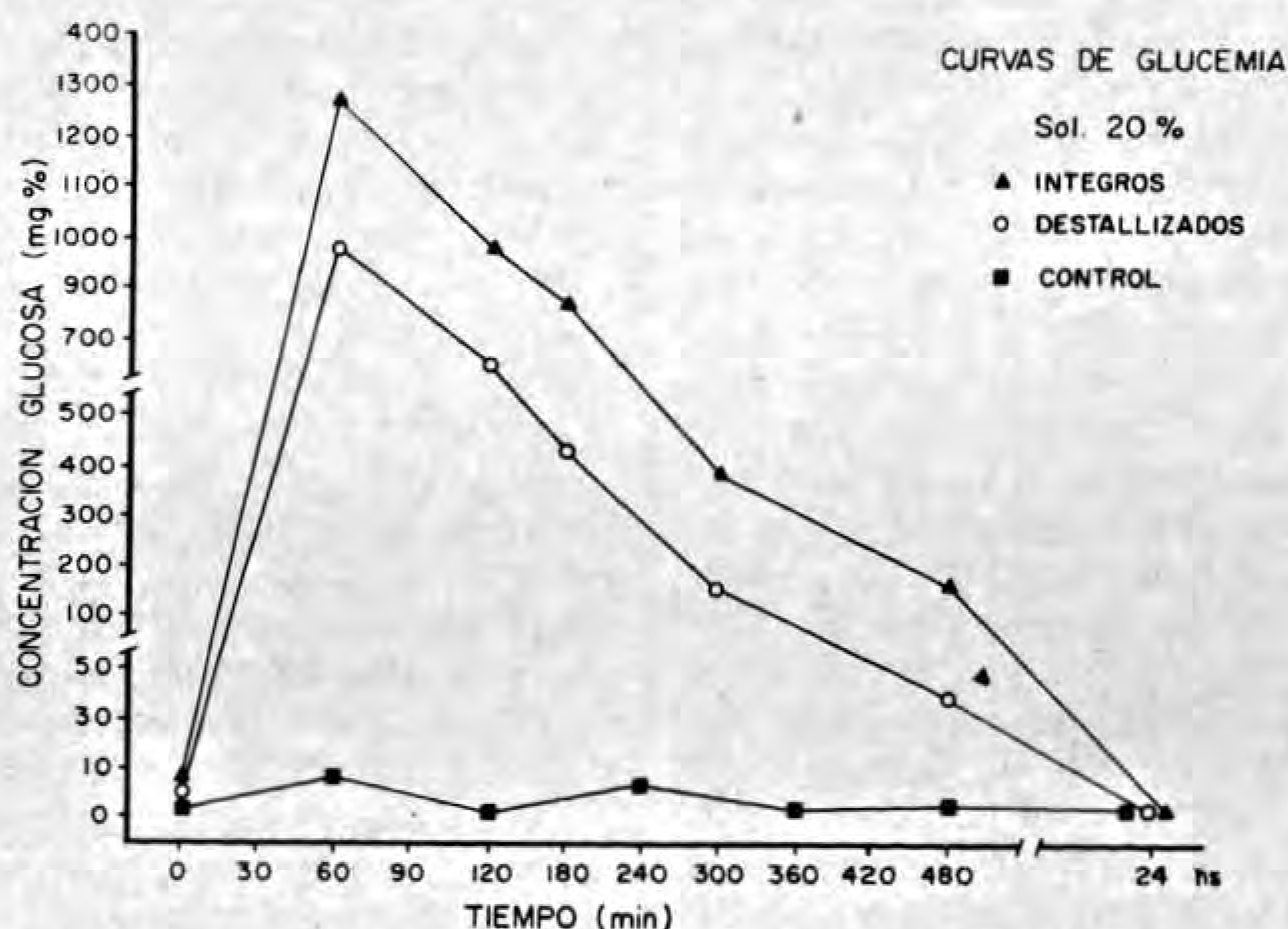
los acociles normales. La diferencia entre las glucemias de los normales y de los destallizados se mantuvo y el descenso a los valores iniciales fue más tardío en éstos.

Las respuestas motoras fueron menos intensas que las mostradas por los animales íntegros y su reposición a la normalidad más lenta y menos satisfactoria, pues al día siguiente del experimento los destallizados manifiestan menor actividad y algunos aparecieron muertos (Gráf. 6).

Eliminación de la glucosa

La eliminación de la glucosa fue muy desigual. Evidente en los primeros minutos consecutivos a la inyección, se produce de acuerdo con las cantidades inyectadas. Después de este período inicial la eliminación cesa o se produce intermitentemente hasta hacerse imperceptible.

No hemos podido establecer relación cuantitativa entre los niveles glucémicos y la eliminación de glucosa a través de la glándula verde en las horas que persiste la hiperglucemia experimental. Tratamos de establecer posibles diferencias en la eliminación de los destallizados, sin que pudiéramos obtener sobre este punto resultados consistentes,[50] ya que en algunos experimentos los animales destallizados se comportaron separándose del patrón general. Este problema será analizado en otra ocasión. Si dejamos por el momento el problema de la eliminación inicial que, además, no afecta el desarrollo consecutivo de la curva glucémica, y nos atenemos a la pendiente de recuperación, que no parece influida sustancialmente por la eliminación, habremos de atribuirla principalmente a la asimilación de la glucosa administrada; esta pendiente asimilativa del azúcar presenta distinta cronología de acuerdo con las concentraciones utilizadas. A diferencia de lo que acontece en los vertebrados, en los que al llegar a niveles muy elevados de la glucemia el riñón elimina el exceso no asimilable, en nuestros crustáceos parece como si los factores de



Gráf. 6

captación fueron mas decisivos que otros mecanismos reguladores.

Discusión

Nuestras observaciones, desde su punto de partida, conciertan en lo fundamental con los datos que ya pudiéramos considerar clásicos, obtenidos por otros investigadores,[18] y difieren en algunos aspectos con ciertas cuestiones tratadas con anterioridad.[35]

La sangría, como estímulo glucemiante, ya hemos visto que es un factor que debemos tomar en cuenta, pero que sólo puede enmascarar los resultados experimentales cuando es muy repetida, copiosa o rápida (Cuadros III y IV). Postulamos[22] que la sangría actúa como estímulo inespecífico sobre el mecanismo de emergencia neurosinusal al producir descenso de presión y disminución del aporte sanguíneo a los centros nerviosos.

Con ello se alteran[51] los mecanismos oxidativos de las neuronas, desciende progresivamente de ATP y las relaciones DPN/DPNH. Esta explicación quizá también sea válida para la excitación asfíctica del sistema neurosinusal, y probablemente para otras excitaciones inespecíficas por ej. aloxana.

Sin embargo, sería peligroso extender la misma explicación para todos los efectos glucemiantes observados al inyectar los acociles con substancias diversas, como hemos visto con la adrenalina, la serotonina y el glucagon.

Ya vimos que en el caso de la adrenalina no se aprecia proporcionalidad entre la dosis inyectada y la respuesta glucemiante (Cuadro VI). Igual reflexión podríamos hacer con respecto al glucagon (Gráfs. 1 y 2). A este propósito sería oportuno recordar la acción de la adrenalina y del glucagon sobre la glucolisis en cultivos de hígado de rata,[52] perro y gato[49] por aumento de fosforilasa activa. Esta acción hormonal sobre las células hepáticas requiere la integridad de la membrana y parece distinta a los efectos producidos al modificar el equilibrio iónico. El aumento de la cantidad de estas hormonas no va seguido de un incremento aditivo de los niveles enzimáticos.

Por lo que se refiere a la serotonina, se ha determinado[53,54] el contenido de ésta en los ganglios y nervios periféricos de los invertebrados y en distintas especies de crustáceos. A este compuesto le atribuyen actividad 100 veces mayor sobre el corazón de los crustáceos de la que muestra la adrenalina. Estas observaciones sugieren la posibilidad de que la serotonina ejerza funciones de "transmisor". Los órganos pericárdicos de los crustáceos[55] contienen una substancia que regula la actividad cardíaca (ortodihidroxitriptamina). Nuestras observaciones en animales destallizados favorecen la hipótesis

de que la serotonina o sus derivados actúen como substancias transmisoras, además de su reconocida acción excitadora del mecanismo neurosinusal, como pusimos de manifiesto al demostrar el diferente comportamiento de los animales íntegros respecto a los destallizados (Cuadro VIII). En *Fasciola hepatica*[56] la serotonina estimula la actividad rítmica, efecto que va acompañado con aumento de la utilización de glucosa y producción de ácido láctico, transformaciones que modifican los niveles de AMP y la activación de la fructocinasa. En los ganglios de los gasterópodos y de los crustáceos se han dosificado cantidades apreciables de serotonina[57] y en ciertas células nerviosas, enzimas aptas para sintetizar e inactivar serotonina sugieren que este compuesto, derivado del triptófano, pueda actuar como transmisor. La serotonina aplicada tópicamente sobre cadenas ganglionares aisladas y sobre tramos conectivos interganglionares de animales íntegros produce aumento de la actividad espontánea en un 100% y persiste durante 30 minutos.[21]

Estos antecedentes y nuestra propia experiencia nos llevan a compartir la opinión de los autores que localizan en la glándula sinus del tallo ocular de los crustáceos, la función de almacenar y liberar hormonas vinculadas con múltiples funciones corporales, entre ellas las metabólicas –el intercambio químico– del organismo.[58] Estas actividades neuro-endocrinas se consideran como una especie de "vía común final"[59,60] de las regulaciones orgánicas. Insistimos en la importancia funcional existente entre el sistema nervioso y las funciones endocrinas. La encrucijada neuro-endocrina se ha localizado en órganos distintos para diversas especies animales: en los insectos, en la porción intercerebral y los "corpora allata"; en los crustáceos, en el tallo cerebral; en los vertebrados, en el hipotálamo, y en los peces y tetrápodos, en estructuras y localizaciones funcionalmente similares.

Las variaciones del contenido de azúcares reductores en la hemolinfa del acocil ha dado fundamento para sugerir la existencia de mecanismos reguladores del metabolismo de los hidratos de carbono en estos animales. Los efectos metabólicos de la destallización,[61,63] y la acción de los extractos de tallo[64] indujeron a postular la intervención de una "hormona diabetógena". La supresión de esta hormona glucemiante[65] en *Carcinus maenas* produce un aumento súbito del contenido total de los hidratos de carbono corporales, semejante al que se observa al final de la intermuda y comienzo de la premuda. También se ha propuesto,[66] para explicar la acción glucemiante, una influencia inhibidora de la hormona sobre la UDPG-transglucosilasa. Sin embargo, la presunta acción "diabetógena" no aparece muy clara en los datos y argumentos aducidos por los Scheer y cols. Tampoco se ha probado en los crustáceos la existencia de una acción hormonal hipoglucemiante como la atribuida a la ecdisona de las glándulas protorácicas de los insectos. Recientemente, en *Calliphora erytrocephala,* Normann,[67] al producir hiperglucemia por decapitación en estos insectos, sugiere la existencia de un factor hormonal hipoglucemiante localizado en la neurosecreción de (MNC) células conectadas con el "corpus cardiacum" y con el "corpus allatum".

Es evidente que los modelos de regulación del metabolismo de los hidratos de carbono en los vertebrados han inspirado y norman las interpretaciones que se esbozan en las especies animales más elementales, pero estas interpretaciones, aún siendo válidas para los mamíferos, carecen de la misma significación en los invertebrados. No es prudente confundir hiperglucemia con diabetes, ni existen pruebas suficientes para atribuir un origen hormonal o neuroendocrino a las hipoglucemias de los crustáceos. En cambio, parece más segura la búsqueda de analogías a nivel molecular. Krebs[68] señaló este camino al advertir que "Entre los más sorprendentes mecanismos reguladores de los organismos inferiores se cuentan las síntesis químicas coordinadas. Este control primitivo de los organismos elementales, se halla también presente en los organismos superiores y de hecho constituyen los sistemas básicos "multirreaccionales, sobre los cuales actúan las hormonas y el sistema nervioso".

Los trabajos sobre *Schistocerca gregaria*[69] otorgan gran importancia a la transformación de glucosa en trehalosa. Este oligosacárido constituirá, uno de los componentes que contribuyen a mantener a niveles bajos la glucosa de la hemolinfa y a facilitar su difusión y transporte. Candy y Kilby[70] muestran que la síntesis de trehalosa se produce en el cuerpo graso de los insectos con la intervención del sistema ATP y MDPG. En la levadura, Cabid y Leloir[71] llegan a parecidas afirmaciones. Otros autores[72,73] señalan otros oligosacáridos (galactosa, maltosa y fucosa) como captores de glucosa.

Nos referiremos ahora a la explicación que

debamos dar a las curvas de tolerancia a la glucosa administrada por vía parenteral que, en algún momento,[74] hicieron creer, por su similitud, que el acocil disponía de mecanismos reguladores comparables a los que operan en los mamíferos. Después de este primer acercamiento al problema, se trató de investigar la presunta homología de ciertos órganos que actuaran en los crustáceos de modo análogo al sistema de glucorregulación de los mamíferos (hígado, páncreas, suprarrenales, hipófisis, etc). Vonk afirmó[75] que el hepatopáncreas de los crustáceos asume el papel del hígado en los vertebrados. Pero el exiguo contenido de glucógeno del hepatopáncreas,[47] en distintas circunstancias experimentales y otras limitaciones, excluyeron esta postulación. Van Weel[76] propuso, para evitar mal entendimiento, sustituir la denominación "hepatopáncreas" que sugiere funciones no demostradas, por otra más afín a las actividades conocidas v. gr. "mid gut gland", glándula del intestino medio, ya que en efecto, el almacenamiento de glucógeno, la regulación de la concentración de aminoácidos, la deaminación y otras funciones hepáticas no han sido evidenciadas en la glándula intestinal de los crustáceos. Sin embargo, las actividades enzimáticas localizadas en la glándula intestinal, descritas con anterioridad y actualizadas por varios autores,[78] habrán de ser integradas en un modelo más comprensivo del metabolismo de los crustáceos y de su regularización,[79] que incluya, además, los elementos hormonales que a través del sistema nervioso sirven al mantenimiento del equilibrio trófico de estas especies animales, entre sus constituyentes celulares y su medio interno, y de éste con el ambiente en que se hallan ubicados como habitáculo normal.

Los Scheer,[80] estudiando la regulación hormonal del metabolismo en *Panulirus penicillatus*, recurrieron a la prueba de la tolerancia de glucosa para seguir los pasos de sus transformaciones y asimilación. Utilizan dosis más bajas que las nuestras (100 mg inyectados en la cavidad cardíaca en solución al 10% = 1 ml, equivalente a 0.33 mg/g, pues los ejemplares utilizados pesan unos 300 g). Observan las curvas de glucemia en animales normales y las comparan con los ejemplares destallizados. Registran los valores máximos a los 60' de la inyección de glucosa y vuelven a la normalidad 4 a 6 horas más tarde; concluyen que la glucosa no se utiliza como substrato oxidativo y proponen que su función principal consiste en la formación de quitina del tegumento. Los niveles de glucemia son más elevados en los animales normales que en los destallizados y en éstos más corto el tiempo de recuperación a la normalidad. Para explicar la diferencia en la incorporación de la glucosa entre los normales y los destallizados, proponen que la velocidad de utilización es mayor en los destallizados. Los tallos oculares liberan un factor normalmente activo para mantener el nivel glucémico. La supresión de los tallos facilitaría la incorporación del azúcar sanguíneo. Hu,[73] aplicado a dilucidar estos procesos en *Hemigrapsus nudus*, afirma que la glucosa se incorpora a las reacciones del ciclo Embden-Meyerhof; añade que una porción del $^{14}CO_2$ eliminado procede de la oxidación de la glucosa, señalando cierta heterogeneidad de la fracción de polisacáridos, y a la trehalosa como posible compuesto de transporte junto a otros oligosacáridos, además de la posibilidad de que la glucosa pudiera seguir las vías pentosa y purínica para llegar a la formación de nucleótidos. Kamemoto y cols.,[81] en *Procambarus clarkii*, sugieren que ciertos factores neuroendocrinos intervienen en la regulación osmótica. La ligadura de los tallos determina aumento de peso y dilución del medio interno, por paso de agua a través de las branquias y bloqueo simultáneo de los nefroporos; la inyección de extractos de cerebro o de extractos de tallo evita la disminución del contenido de cloruros en la hemolinfa de los destallizados.

La primera interpretación que dimos para explicar la diferencia entre las curvas que presentan los animales íntegros respecto a los destallizados, estaba más de acuerdo con la sugerida por Scheer. La irrupción de una substancia extraña, en este caso la glucosa, excitaría el sistema neurosinusal del tallo, liberando cierta cantidad de factor glucemiante que se sumaría a la acción hiperglucémica de la glucosa inyectada. En los destallizados, a falta de acción aditiva, la curva sería más baja. Más tarde, la asimilación o transformación del azúcar inyectado probablemente seguiría el mismo destino. La persistencia de la curva a niveles más bajos pudiera interpretarse también de acuerdo con la supresión del factor glucemiante, cuyos efectos suelen persistir durante 2 a 4 horas.

Nos proponemos repetir las observaciones de Kamemoto, ratificadas por Ehrenfeld,[82] por si el factor osmótico fuera decisivo, aunque bien pudieran concurrir los dos mecanismos mencionados.

En cuanto a la asimilación de la glucosa inyectada, las posibilidades de utilización y almacenamiento parece que pueden ser muy variadas. La valoración de los hidratos de carbono en la hemolinfa y en la glándula intestinal de *Carcinus maenas*[83] ha permitido identificar en ambos tejidos glucosa, trehalosa, maltosa, fructosa y fucosa; encuentran glucosamina en la glándula intestinal, pero no en la sangre. La cromatografía de los hidrolizados de ambos tejidos señala la presencia de glucógeno y quitina. Los polisacáridos predominan en la hemolinfa, pues constituyen el 75 al 80% de los hidratos de carbono circulantes. Los polisacáridos y especialmente el glucógeno son escasos en la glándula intestinal (hepato-páncreas) 10 a 20% del total de hidratos de carbono. Sugieren que los hemocitos en suspensión en la hemolinfa almacenan y sintetizan hidratos de carbono.

Siguiendo esta línea de investigación, es preciso referir las observaciones de Lang,[84] que describe las actividades de 14 enzimas para la conversión de los monosacaridos, en 11 órganos distintos del *Orconectes limosus*. Consideramos que éste, tal vez, pueda ser el camino certero para desentrañar muchos problemas del metabolismo en los crustáceos.

Keller y cols.[85] observan que la destallización determina hipoglucemia y aumento de glucógeno en diferentes tejidos durante la intermuda, en la epidermis de *Panulirus* y en el músculo de los animales en premuda y postmuda. Aseguran que el efecto hormonal en los destallizados se produce a nivel enzimático. La destallización inactiva el sistema de fosforilación y activa el sistema glucógeno sintetasa en el tejido muscular. La inyección de extracto activo de tallo inhibe la glucógeno-sintetasa.

Telford[86] en *Cambarus robustus* confirma la acción de la hormona glucemiante sobre el sistema fosforilasa del músculo, aunque muestra cierto escepticismo en cuanto a la función reguladora atribuida a dicha hormona.

Las opiniones aducidas y nuestras propias experiencias demuestran que no existe consenso unánime sobre los temas enunciados. Pero, a pesar de ello, quedan algunos hechos firmemente establecidos, que permiten esperar surja quien pueda armonizarlos en una síntesis satisfactoria.

Quizá sea útil señalar la necesidad de ahondar las investigaciones a nivel molecular, pues es en este campo de conocimientos donde confluyen más coincidencias. También sería útil concentrar los resultados en estratos biológicos que comprendan especies afines, ya que interpolar los resultados de especies alejadas entre sí presenta, como hemos visto, muchos inconvenientes.

La evidente adaptación de los crustáceos al medio donde viven y además las posibilidades de mantener en actividad delicados mecanismos reguladores que apenas conocemos, estimulan a seguir estas investigaciones que, aun presentando muchas incógnitas, señalan metas alentadoras.

Conclusiones

1. Establecimos los valores básicos de la glucosa en la hemolinfa del acocil *Procambarus bouvieri*.
2. La destallización cuidadosa no altera apreciablemente los valores glucémicos de estos animales.
3. Los efectos glucemiantes de la asfixia, de la sangría, de las manipulaciones y de la administración de ciertos fármacos u hormonas, han ratificado los datos establecidos por otros investigadores y además hemos aducido algunos hechos nuevos.
4. Las respuestas glucemiantes que pudiéramos denominar de "emergencia" dejan de producirse en los animales destallizados, pero se conservan las producidas directamente sobre los sistemas enzimático-moleculares.
5. El mecanismo glucemiante más común y casi todos los dependientes de estímulos nocuos, son de naturaleza neuro-endocrina.
6. Las pruebas de tolerancia a la administración parenteral de glucosa presentan en el acocil curvas semejantes a las de los mamíferos, aunque no coinciden en sus mecanismos de regulación.
7. Las curvas de glucemia de los animales íntegros se producen a niveles más altos que las de los destallizados, diferencia que pudiera explicarse por la adición en los primeros del factor hiperglucemiante o bien por alteraciones osmóticas consecutivas a la destallización.
8. En la asimilación del azúcar administrado es problemática la presunta intervención de la glándula del intestino medio (hepatopáncreas). El almacenamiento y la utilización de los hidratos de carbono se produce en varios órganos: músculos, hemolinfa, órganos genitales, etc., con la intervención preponderante

de diversos conjuntos enzimáticos a nivel celular.

Bibliografía

1. Pi Suñer, A., Libro Homenaje, ofrecido por sus colaboradores amigos y discípulos en el 50_{esimo} aniversario de su acceso a la cátedra. 261 pp. Edimex-México, 1956.

2. Pi Suñer, A., Sistema neurovegatativo. 869 pp. 2da. Ed. UTEHA, 1954.

3. Houssay, B. A. y J. Lewis, Regulación de la secreción interna del páncreas. *Arch. Soc. Biol. Montevideo*, **2**, 338, 1931.

4. Leloir, L. F., Suprarrenales y metabolismo de los hidratos de carbono. Tesis de doctorado en Medicina. Buenos Aires. 188 pp. Universidad Nacional de Buenos Aires, 1934.

5. Cori, C. F., Mammalian carbohydrate metabolism. *Physiol. Rev.*, **41**, 143, 1931.

6. Puche, J., El sistema nervioso autónomo en la regulación de la glucemia. *Trab. Inst. Fisiol. Barcelona*, 2, 92, 1927.

7. Houssay, B. A., The hypophysis and carbohydrate metabolism. *N. Engl. J. Med.*, **214**, 971., 1936.

8. Etcheverry, A. O., Regulación nerviosa de la secreción interna del páncreas. Tesis doctoral. Buenos Aires, 157 pp., 1937.

9. Soskin, S. y K. Levine, The carbohydrate metabolism. Chicago University Press, 346 pp., 1952.

10. Puche, J., Influencia de la asfixia en la regulación de la glucemia. Instituto de Fisiología. Facultad de Medicina. Barcelona, **3**, 56-57., 1929. Influence of asphyxia in glycemic regulation. *Amer. J. Physiol.*, **93**, 480-481., 1929.

11. Houssay, B. A. y E. Anderson, Acción diabetógena de hormonas hipofisarias purificadas. *Rev. Soc. Argent. Biol.*, **25**, 91, 1949.

12. Gerard, R. W., Metabolism and excitation. Cold Spring Harbour on Q. Biology, **4**, 285, 1936.

13. Cannon, W. B., Bodily changes in pain, hunger, fear and rage, 2nd. ed., Appleton, N. York, 1929.

14. Himwich, H. E., Brain metabolism and cerebral disorders. Williams & Wilkins Co., Baltimore. 451 pp., 1951.

15. Alvarez-Buylla, R. y E. R. Alvarez-Buylla, Regulation of hipoglycemia in hipophysectomiced dogs with glandular transplants in the "sella turcica". *Acta Physiol. Latino-Amer.*, **13**, 306-312, 1963.

16. Sutherland, E. W., C. F. Cori, R. Haynes y N. S. Olsen, Purification of the hyperglycemic-glycogenolitic factor from Insulin and from gastric mucosa. *J. Biol. Chem.*, **180**, 825, 1949.

17. Prosser, C. L., Comparative animal Physiology. Saunders, Philadelphia, 1950.

18. Waterman, T. H., The physiology of crustacea, 2 vols. New York Academic Press Inc., 1960.

19. Wiersma, C. A. G., Invertebrate nervous system. Their significance for mammalian neurophysiology. Ed. Wiersma, C. A. G., Chicago University Press, 1967.

20. Martin, A. W., Comparative Physiology of carbohydrate metabolism in heterothermic animals. University of Washington Press. Seatle, 1961.

21. Puche, J., H. Arechiga y L. F. Abreu, Nota preliminar acerca de los mecanismos determinantes de las hiperglucemias en el acocil (*Procambarus bouvieri*). Actas del XIII *Congr. Nal. de Cienc. Fisiol.*, Morelia, agosto 27, 71-72., 1970.

22. Puche, J. y Y. Berdeja, Estudios sobre el metabolismo de los crustáceos. II. Interpretación de las respuestas hiperglucemiantes en el acocil (*Procambarus bouvieri*). Actas del XIII *Congr. Nal. de Cienc. Fisiol.* Morelia, agosto 27, 72-73., 1970.

23. López, D. y J. Puche, Disociación de los efectos glucemiantes de la desecación y de la asfixia en *Procambarus bouvieri, Actas del XIV Congr. Nal.* de *Cienc. Fisiol.*, 8 de diciembre, Oaxtepec (Morelos) 44, 1971.

24. Puche, J., Curvas de tolerancia de glucosa en el acocil (*Procambarus bouvieri*). *Actas del XIV Congr. Nal. de Cienc. Fisiol.*, 8 de diciembre, Oaxtepec (Morelos) 57, 1971.

25. Berdeja, Y. y J. Puche, Influencia del glucagon sobre la glucemia del *Procambarus bouvieri. Actas del XIV Congr. Nal. de Cienc. Fisiol*, 8 de diciembre, Oaxtepec (Morelos) 19, 1971.

26. López, D. y J. Puche, La presión osmótica de algunos crustáceos mexicanos. *Actas de XV Congr. Nal. de Cienc. Fisiol.*, 22 agosto. S. Cristóbal las Casas, Chis., 15-16, 1972.

27. Puche, J., Efectos de la administración parenteral de diferentes concentraciones de glucosa en el acocil (*Procambarus bouvieri*). *Actas del XV Congr. Nal. de Cienc. Fisiol.*, 22 de agosto. S. Cristóbal las Casas, Chis., 19, 1972.

28. Puche, J. y B. Barrera Mera, Conducta alimentaria del acocil (*Procambarus bouvieri*). *Actas del XVI Congr. Nal. de Cienc. Fisiol.*, 4 de julio, Zacatecas, Zac., 43, 1973.

29. Huberman, A., Y. Berdeja, V. E. Valles y J. Puche, Identificación de la substancia hiperglucemiante de la glándula sinusal. (*Procambarus bouvieri*). *Actas del XVI Congr. de Cienc. Fisiol*, 4 de julio, Zacatecas, Zac., 44, 1973.

30. López, D. y J. Puche, La eliminación de la glucosa en las hiperglucemias experimentales del acocil (*P. bouvieri*). *Actas del XVI Congr. de Cienc. Fisiol.*, 4 de julio, Zacatecas, Zac., 45, 1973.

31. Berdeja, Y., R. Pedroza y J. Puche, Sobre la acción hiperglucemiante del glucagon. *Actas del XVII Congr. Nal. de Cienc. Fisiol.*, 12 de junio, Ixtapan de la Sal, Edo. de México, 1974.

32. Florkin, M. y G. Duchateau, La glycemie de l'écrevisse après l'injection d'adrenaline ou d'insuline. *C. R. Soc. Biol.*, **132**, 484-486, 1939.

33. Stott, F. C., Einige vorläufige Versuche über Veränderungen des Blutzuckers bei Decapoden. *Biochem. Zeib.*, **247**, 55-64, 1932.

34. Rcche, J. y C. Dumazert, Sur la glycemie de *Cancer pagurus. R. Soc. Biol, Paris.*, **120**, 1225-1227, 1935.

35. Kleinholz, L. H. y B. C. Little, Studies in the regulation of blood sugar concentration in crustaceans. I. Normal values and experimental hyperglycemia in *Libinia marginata. Biol. Bull.*, **96**, 218-227, 1949.

36. Bliss, D., Endocrine control of metabolism in the land crab *Gecarcinus lateralis* (Fréminville). I. Differences in the respiratory metabolism of sinus glandless and eyestalkless crabs. *Biol. Bull. Wood's Hole*, **104**, 275-296, 1953.

37. Carlisle, D. B. y F. G. W. Knowles, Endocrine

control in crustaceans. Cambridge University Press. New-York, 1959.

38. SCUDAMORE, H. H., The influence of the sinus glands upon moulting and associated changes in the crayfish. *Physiol. Zöo.*, **20**, 187-208, 1947.

39. EDWARDS, G. A., The influence of eyestalk removal on the metabolism of fiddler crab. *Physiol. Comp.*, **2**, 24-50, 1950.

40. NEILAND, K. A. y B. T. SCHEER, The influence of fasting and of sinus gland removal on body composition of *Hemigrapsus nudus*. *Physiol. Comp.*, **3**, 321-326, 1953.

41. SCHEER, B. T., The hormonal control of metabolism in decapod crustaceans. Recent advances in invertebrate Physiology. University of Oregon., 213-217, 1957.

42. MEDVEDEVA, Nat., Le problème de la réactivité spécifique des invertebrés aux increts des vertebrés. *Medich. Zhurnd vseukraiu. Acad. U.S.S.R., Kiev, Nauk.*, **6**, 385-387, 1936.

43. KALMUS, H. y V. WALDES, Ist die durch Adrenalin bewirkte Glycolyse beim Flusskrebs spezifisch. *Zeits. Vergl. Physiol.*, **23**, 80-236, 1936.

44. CHAVIN, W. y J. E. YOUNG, Effects of alloxane upon goldfish (*C. auratus* L).*Gen. Comp. Endocrinology*, **14** (3), 438-460, 1970.

45. BAUCHAU, A. G. y J. C. MENGEOT, Serotonine et glycemie chez les crustacés. *Experientia*, **22** (4), 238-239, 1966.

46. KLEINHOLZ, L. H., V. J. HAVEL y R. REICHART, Studies in the regulation of blood sugar concentrations in crustaceans. II, Experimental hyperglycemia and the regulatory mechanism. *Biol. Bull. Wood's Hole.*, **99**, 454-468, 1950.

47. LOCKWOOD, A. P. W., The osmoregulation of crustacea. *Biolog. Rev.*, **37**, 257-305.

48. LÓPEZ, D. y J. PUCHE, La presión osmótica de algunos crustáceos mexicanos. *XV Congr. Nac. Cienc. Fisiol., S. Cristóbal las Casas, Chis.*, 15-16, 1972.

49. SUTHERLAND, E. W., I. OYE y R. W. BUTCHER, The action of epinephrine and the role of the adenyl-cyclase system in hormone action. *Recent Prog. Horm. Res.*, **21**, 623-646, 1965.

50. LÓPEZ, D. y J. PUCHE, La eliminación de la glucosa en las hiperglucemias experimentales del acocil. *Res. XVI Congr. Nac. Cienc. Fisiol., Zacatecas, Zac.*, 45, 1973.

51. GIACOBINI, H. y A. GRASSO, Variations of glycolitic intermediates after prolonged stimulation of an isolated crustacean neurone. *Acta Phys. Skand.*, **66**, 49-57, 1966.

52. CAHILL, G. F., J. ACHMORE y A. B. HASTINGS, Studies on carbohydrate metabolism in rat liver slices. *J. Biol. Chem.*, **224**, 237-250, 1957.

53. FLOREY, E. y E. FLOREY, *Naturwiss.*, **40**, 413, 1953.

54. FLOREY, E. y E. FLOREY, *Zeit. naturforsch.*, **96**, 58, 1954.

55. CARLISLE, D. B., An indole-alkylamine regulating heart-beat in Crustacean. *Bioch. J.*, **63**, 32-33, 1956.

56. MANSOUR, T. E. y J. M. MANSOUR, Effects of serotonin and adenosine 3-5 phosphate on phosphofructokinase from the liver fluke *Fasciola hepatica*. *J. Biol. Chem.*, **237**, 629, 1962.

57. GARATTINI, S. y L. VALZELLI, Serotonin. Elsevier Pubs. Co. New York, 1965.

58. WELSH, J. H., Neurohormones or transmiter agents. Recent advances in invertebrate Physiology. University of Oregon Press, Eugene, 1957.

59. KNOWLES, F. G. W. y H. A. BERN, Function of neurosecretieon in endocrine regulation. *Nature*, **210**, 271, 1966.

60. DE ROBERTIS, E. D. F., Histophysiology of sinapses and neurosecretion. Pergamon Press, New York, 1964.

61. MC WHINNIE, M. A. y P. N. SALLER, Analysis of blood sugars in the crayfish *Orconectes virilis*. *Comp. Bioch. Physiol.*, **1**, 110-122, 1960.

62. SCHEER, B. T., The hormonal control of metabolism in crustaceans. *Biol. Bull.*, **116**, 175, 1959.

63. JENKIN, P. M., Animal hormones. A comparative study. Pergamon Press, New York, 1962.

64. ABRAMOVITZ, H. A., F. L. HISAW, y D. N. PAPANDREA, The occurrence of a diabetogenic factor in the eyestalks of crustaceans. *Biol. Bull.*, **86**, 1-5, 1944.

65. SCHEER, B. T. y M. A. R. SCHEER, Blood sugar in spring lobsters. *Physiol. Comp. Oecol.*, **2**, 35-50, 1951.

66. RAMAMURTHI, R., M. W. MUMBACH, y B. T. SCHEER, Endocrine control of glycogen synthesis in crabs. *Comp. Biochem. Physiol.*, **26**, 311-319, 1968.

67. NORMAN, T. CH. Neurosecrotory cells in insect brain and production of hypoglycemic hormone. *Nature*, **254**, 259--261, 1975.

68. KREBS, H., Regulation of cell metabolism. Ciba Foundation Symposium. Churchill J. A. Ld. págs. 1-11. 1959.

69. TREHERNE, J E., The absortion of glucose from the alimentary canal of the locust *Schistocerca gregaria*. *J. Exp. Biol.*, **35**, 297-306, 611-625, 1958.

70. CANDY, D. J. y B. A. KILBY, Site and mode of trehalose biosyntesis in the locust. *Nature*, **183**, 1594-1595, 1959.

71. CABID, E. y L. F. LELOIR, The enzimatic synthesis of trehalose phospate. *J. Am. Chem. Soc.*, **75**, 5445-5446, 1953.

72. MC WHINNIE, M. A. y A. S. CHUA, Hormonal of crustacean tissue metabolism. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 624-633, 1964.

73. HU, A. S. L., Glucose metabolism in the crab, *Hemigrapsus nudus*. *Arch. Biochem. and Biophysics*, **75**, 387-395, 1958.

74. HEMMINGSEN, A. M., Blood sugar regulation in the crayfish. *Arch. Physiol.*, **46**, 51-56, 1924.

75. VONK, H. J., Die Eigenschaften des Verdaungsaftes von *Potamobius* (*Astacus*) *leptodactilus* und anderen Invertebrates in Bezung auf die Fettresorption *Z. verlg. Physiol.*, **21**, 717-738, 1935. (En *"Physiology of Crustacea"*, Waterman, T. H. Ed, vol. I, 291-316, Academic Press, N. Y., 1960).

76. WEEL VAN, P. B., Hepatopancreas. *Comp. Biochem. Physiol.*, **47** A, 1-9, 1974.

77. FINGERMAN, M., T. DOMINICACZAK, M. MIYAWAKI, CHI OGURO y J. YAMAMOTO, Neurocrine control of the hepatopancreas in the crayfish *Procambarus clarkii*. *Physiol. Zool.*, **11**, 23, 1967.

78. WILLIBRORDUS, J., A. VAN MARREWIJK y H. J. L. RAVESTEIN, Amino acid metabolism of *Astacus leptodactilus*. *Comp. Biochem. Physiol.*, **47** *B*, 531-542, 1974.

79. MATTHEWS, J. R. y G. H. DOWNER, Origin of trehalose in stress-induced hyperglycemia in the american cockroach, *Periplaneta americana*. *Canad. J. Zool.*, **52** (8), 370, 1974.

80. SCHEER, B. T. y SCHEER, Blood sugar in spiny lobsters. *Physiol. Comp. et Oecol.*, **2**, 198-209, 1951.

81. KAMEMOTO, F. I. y J. K. ONO, Neuroendocrine regulation of salt and water-balance in the crayfish *Procambarus clarkii*. *Comp. Biochem. Physiology*, **29**, 393-401, 1969.

82. EHRENFELD, J. y J. ISAIA. The effect of ligaturing the eyestalks on the water and ion permeabilities of *Astacus leptodactilus*. *J. Comp. Physiol.*, **93**, 105-115. 1969.

83. JOHNSTON, M. A. y L. P. DAVIES, Carbohydrates of the hepatopancreas and blood tissues of *Carcinus*. *Comp. Biochem. Physiol.*, **41 B**, 433-443, 1972.

84. LANG, R., Chitinsynthese bei dem Flusskrebs *Orconectes limosus*. *Z. Vergl. Physiologie*, **73**, 285-304, 305-316, 1971.

85. KELLER, R. y E. M. ANDREW, The site of action of the crustacean hyperglycemic hormone. *Gen. Comp. Endocrinology*, **20**, 572-578, 1973.

86. TELFORD, M., Blood glucose in crayfish. III. The source of glucose and role of the eyestalk factor in hyperglycemia of *Cambarus robustus*. *Comp. Biochem. Physiol.*, **51 B**, 69-73, 1975.

CIENCIA, MÉX.
15, Diciembre, 1975
XXIX (3-4) 229-230

SACAROSA EN LAS ANTERAS DE LA COPA DE ORO, *SOLANDRA NITIDA* (SOLANACEAE)

Componentes de flores tropicales, 1

FRANCISCO GIRAL, MARÍA TERESA REGUERO y CARMEN RIVERA

Laboratorio de Química Farmacéutica y Productos Naturales
División de Estudios Superiores de la Facultad de Química
Universidad Nacional Autónoma de México
Ciudad Universitaria, México, D. F.

RESUMEN

Se ha encontrado 0.4% de sacarosa en las anteras (0.08 mg por antera de 20 mg) de la "copa de oro", *Solandra nitida* (Solanaceae). También los filamentos de los estambres contienen sacarosa. No se encontró sacarosa en el cáliz ni en el pistilo de la misma flor. Sólo se descubrieron huellas en la corola. Se identificaron, química y espectroscópicamente la sustancia y su acetato.

SUMMARY

In the anthers of "golden cup", *Solandra nitida* (Solanaceae) it has been found 0.4% of sucrose (0.08 mg per anther of 20 mg weight) which does exists also in the filaments of stamens. The corolla contains only traces. Neither calyx nor pistil contains sucrose.

La sacarosa es una de las sustancias orgánicas más extendida en los vegetales. Desde fines del siglo pasado y utilizando técnicas basadas en el aislamiento e identificación química y polarimétrica —purificando con hidróxido de estroncio— se vienen haciendo estudios sistemáticos sobre la distribución taxonómica de la sacarosa.[1] Los valores más altos se encontraron en las semillas de trigo, *Triticum vulgare* (20 g de 2 Kg) y de café, *Coffea arabica* (2.5 g de 250 g), o sea, en ambos casos 1%. Sorprende que las semillas de otras gramíneas, próximas al trigo, contengan cantidades muy inferiores: 0.008% en la avena, *Avena sativa* (0.25 g de 3 Kg) y 0.005% en el centeno, *Secale cereale* (0.15 g de 3 Kg) En cambio, las hojas y los tallos aéreos frescos del propio centeno contienen mucho más: 0.125% (1 g de 800 g).

Mientras el altramuz (*Lupinus luteus*) no contiene sacarosa en la semilla, *el germen etiolado* de la misma planta llega a tener 0.375% (3g de 800 g). Una proporción muy semejante se encuentra en el germen etiolado de la papa (*Solanum tuberosum*) 0.2% (4 g de 2 Kg), mientras que el girasol, *Helianthus annuus*, tiene una cantidad equivalente, 0.21% (1.5 g de 700 g), en el germen etiolado, pero casi la misma en la semilla: 0.14% (0.7 g de 500 g).

Se ha determinado la variación *horaria*, en el mismo día, del contenido en carbohidratos invertibles, probablemente sacarosa, en las hojas de remolacha, *Beta vulgaris*, encontrando que es mucho más alto el contenido de las hojas hacia la tarde que por la mañana.[2]

Más recientemente y con técnicas modernas —cromatografía en papel y cromatografía en capa delgada— se ha determinado la presencia cualitativa de sacarosa en las semillas de 81 especies de plantas monocotiledóneas y dicotiledóneas, acompañada por rafinosa en la mayoría de los granos (70 sobre 81) y pocas veces por estaquiosa.[3]

En el extraordinario trabajo de Schulze y Frankfurt,[1] a pesar de estar realizando hace 80 años, se llegó a identificar sacarosa en algunas *partes de flores*: 0.2% (1 g de 500 g) en los capullos sin abrir del peral y, cualitativamente, en polvo floral de avellana y de pino, así como en el néctar de diversas flores.

También con cromatografía en placa delgada, Linskens ha determinado carbohidratos totales en anteras de *Lilium henryi*.[4] En pétalos de una flor hindú, *Bassia latifolia*, se ha en-

contrado una gran variedad de carbohidratos, entre ellos sacarosa.[5]. Finalmente, en polen y estigmas de *Nicotiana tabacum*, *Petunia hybrida* y *Salpiglosis sinuata* se ha determinado carbohidratos totales.[6]

Hasta ahora, no se ha hecho un análisis sistemático de la composición química de las distintas partes de una misma flor, a pesar del interés que tiene por tratarse del órgano de reproducción de la planta. Al iniciar un estudio químico de flores tropicales que, por su gran tamaño, facilitan el análisis en partes separadas, comenzamos con la "copa de oro", gran flor tropical que se da silvestre, o se reproduce con exuberancia mediante un cultivo de mínimos requisitos, en distintos lugares de México y muy concretamente en el Estado de Morelos. Se trata de la especie *Solandra nitida* (Solanaceae).

La primera sustancia aislada de las anteras fue sacarosa, que se concentra de una manera específica en la proporción de 0.4% (0.08 mg por antera, con un peso promedio de 20 mg). La misma sacarosa no se encuentra en el cáliz ni en el pistilo. Solamente se encontraron huellas en la corola y una cantidad apreciable en los filamentos de los estambres.

Vale la pena destacar que la copa de oro no es de las flores más visitadas por insectos, ni tiene gran valor como planta melífera.

Material y métodos

Las anteras fueron recolectadas en Cuernavaca (Morelos) y separadas del resto de la flor. Las anteras tienen forma oblonga y un peso promedio de 20 mg.

Las enteras molidas (150 g) se extrajeron en soxhlet con los siguientes disolventes sucesivos: hexano, cloroformo, éter, metanol, agua y agua acidulada, obteniendo los extractos correspondientes.

Resultados

En el extracto metanólico se hicieron las siguientes reacciones:

Alcaloides: negativa.

Lucas: positiva para los alcoholes secundarios.

$FeCl_3$: precipitado color verde.

NaOH: precipitado amarillo que se redisuelve en exceso de NaOH (flavonas).

HCl: ligero precipitado amarillo.

El extracto metanólico se trató con benceno en caliente, se filtró y con el residuo insoluble se hizo cromatografía en columna sobre gel de sílice G, empleando como eluyente MeOH-$CHCl_3$ (60:40).

Se recuperó una fracción de $R_f = 0.43$, la que se cristalizó de metanol, obteniendo cristales blancos de punto de fusión = 183° – 184°C.

Análisis encontrado: C, 42.35% H, 6.51%; O, 51.54%.

Calculado para $C_{12}H_{22}O_{11}$: C, 42.10%; H, 5.48%; O, 51.42%.

Los espectros de I.R. y R.M.N. coinciden con los de una muestra auténtica de sacarosa.

Para confirmar la identidad del producto se preparó el acetato. El punto de fusión de mezcla, el espectro I.R. y el de R.M.N. coinciden con los del acetato de sacarosa.

Referencias bibliográficas

1. Schulze, E. y S. Frankfurt, *Zeitschrift f. Physiolog. Chem.*, **20**: 511 (1895).
2. Girard, A., *Compt. rend. Acad. Sci.*, **97**: 1305, (1883).
3. Duperon, R., *Compt. rend. Acad. Sci.*, **241**, 1817 (1955).
4. Linskens, H. F., *Ber. dtsch. botom. Ges.*, **69**: 353, (1956).
5. Sutaria, P. B., y N. G. Magar, *J. Judian Chem. Soc. Ind. New Ed.*, **18**: 43, (1955).
6. Bellartz, S. *Planta*, **47**: 588, (1956).

(Ciencia, Méx.)
15, Diciembre, 1975
XXIX (3-4) 231-233

Tecnología

CAPTORES DE FUERZA A BAJO COSTO

F. Folch, V. R. Feria C. y R. G. López
Departamento de Fisiología
Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México
México, D. F.

Sería un error creer que la prosperidad económica, o el aumento de las dotaciones, basta para eliminar todos los problemas de los laboratorios de fisiología y farmacología de América Latina; pero puede afirmarse que todos sufrimos las consecuencias de la falta de recursos. El dispositivo descrito aquí permite aumentar el rendimiento del presupuesto del laboratorio, pues cuesta diez veces menos que los captores "o transductores" de fuerza comerciales de empleo más frecuente y los substituye aceptablemente en buen número de aplicaciones. Construidos inicialmente para resolver un problema específico de registro, estos captores económicos mostraron una sensibilidad y versatilidad susceptibles de interesar a gran variedad de laboratorios en América Latina. Cabe adelantar que pueden diseñarse, con los mismos elementos,

Figura 1

otros dispositivos de transducción que conservan las dos ventajas del propuesto: su bajo costo y sus pequeñas dimensiones.

Como en muchas variantes conocidas, la fuerza problema, al deformar un resorte, modifica la resistencia eléctrica de un conjunto de tensómetros ("strain gauges"). El material necesario se presenta en la Fig. 1. Los componentes más costosos son los cuatro tensómetros de aleación de cobre y níquel.* Los que utilizamos (2 mm en su dimensión máxima) permiten el uso de un soporte elástico muy pequeño. En este caso particular se cortan con tijeras, hojas o cintas de máquina de afeitar, hasta formar láminas de 3 × 15 mm, que se fijan con resina epóxica a un soporte de plástico, sobre el cual se sueldan los alambres de conexión. El conjunto formado por el resorte y los tensómetros se introduce en un protector, constituido por un tubo de plástico de sección octogonal procedente de las agujas hipodérmicas del comercio (Fig. 2).

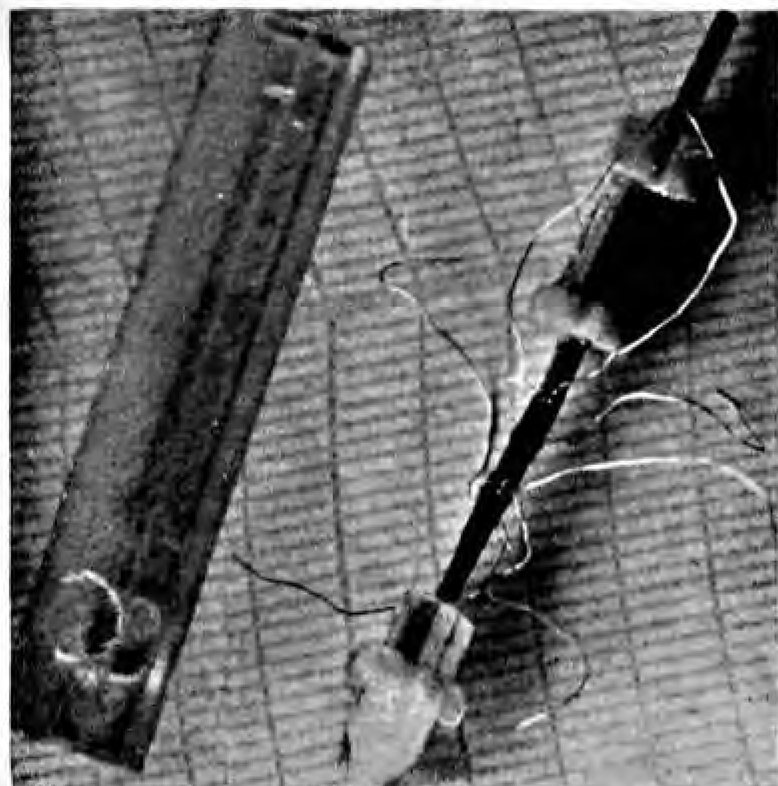


Figura 2

Las Fig. 3 y 4 muestran la disposición de los tensómetros sobre la lámina de acero y sus

* Kyowa Electronic Instruments Co. Ltd., Tokio, Japón.

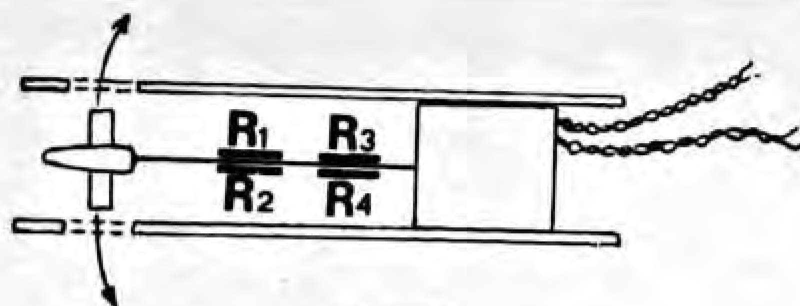


Figura 3

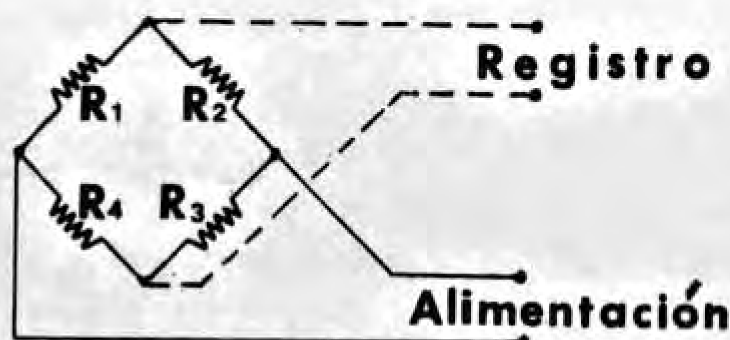


Figura 4

conexiones eléctricas. Para fijar simétricamente los cuatro tensómetros sobre la lámina, se utiliza un pegamento instantáneo existente en el comercio (Permabond). Las conexiones eléctricas forman un puente de Wheatstone, también simétrico. Así se cuadruplica el voltaje de salida respecto al que se obtendría con un solo tensómetro y se anulan los posibles efectos térmicos. Los dos alambres de alimentación son intercambiables con los dos de registro.

El aparato ya terminado (Fig. 5) mide 4-5 cm, pesa menos de 2 g, y tolera el trato que podría darse a un audífono de radio portátil. Para el uso, el pequeño tubo de plástico pegado en el extremo libre de la lámina de acero recibe a presión un alfiler, una tachuela o un fragmento de mondadientes, donde se aplica la fuerza problema. El tamaño del protector externo de plástico permite sujetar el captor con cualquier pinza de laboratorio.

El puente se alimenta con corriente directa o alterna, en función de los amplificadores y del equipo de registro disponible. El fabricante recomienda que la corriente a través de cada tensómetro, cuya resistencia es de 120 ohmios, no pase de 35 miliamperios. Entre muchas po-

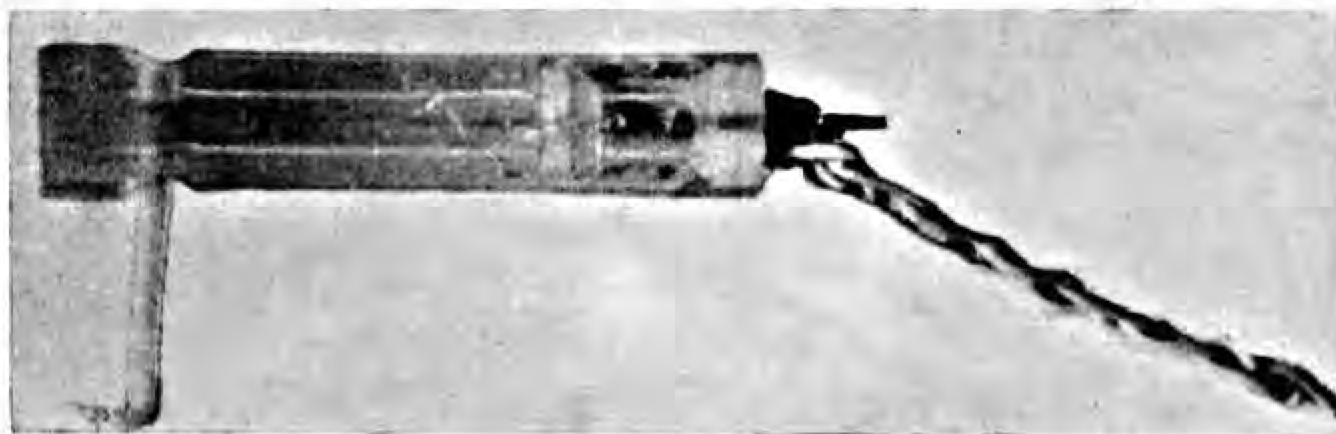


Figura 5

sibles soluciones, utilizamos la alimentación con dos pilas secas de 1.5 voltios y el registro con un preamplificador de corriente directa;** puede emplearse también una frecuencia alta de un preamplificador "carrier".*** Cuando basten las lecturas, sin registros, de fenómenos lentos, debe poderse emplear un simple microvoltímetro con un potenciómetro de equilibración, aunque este montaje no se realizó.

La linearidad es satisfactoria y, cuando se utiliza un preamplificador de DC, aplicando al captor una alimentación de tres voltios, es fácil obtener deflecciones de 1 cm por mg de fuerza externa. Esta sensibilidad permite obtener buenos registros mecánicos con fragmentos muy pequeños de tejido contráctil, lo que puede resultar de interés para una gama de laboratorios. Es preciso disponer de una calibración externa, como en otros aparatos similares. Se puede ampliar el campo de aplicación de un determinado captor añadiéndole resortes externos, en cuyo caso la lámina de acero sólo constituye un indicador de posición; otras veces, es mejor construir un captor adaptado al registro de un fenómeno particular, por ejemplo, cambiando las dimensiones de la lámina de acero. Si el captor forma parte de otro dispositivo, éste podrá ser ajustado en una o varias de sus características, como las propiedades de la membrana en el tambor manométrico utilizado para parámetros circulatorios periféricos de animales pequeños.

En resumen, el dispositivo presentado recurre a soluciones clásicas del problema de la transducción mecánica, aplicadas exclusivamente con medios elementales de laboratorio; su interés principal estriba en el ahorro debido al bajo costo (inferior a doscientos cincuenta pesos mexicanos, equivalentes a veinte dólares norteamericanos) lo que facilita la adquisición de otros equipos muy costosos imposibles de duplicar en laboratorios modestos.

** Modelo 7P1, Grass Instrument Co., E.U.
*** Modelo 93-500-70, E & M Instrument Co., U.S.A.

Indice de autores del Volumen XXIX

Berdeja, Y., 213
Carrasco-Formiguera, R., 193
Cuatrecasas, P., 205
De Venanzi, F., 181
Feria, V. R., 231
Folch, F., 231
Gallego, A., 151
Giral, F., 229
López, D., 213
López, R. G., 231
Puche, J., 213
Reguero, María T., 229
Rivera, Carmen, 229
Tamarit, J., 151
Vázquez Sánchez, J., 1, 139, 151

El Volumen XXIX de *"Ciencia"* se ha publicado en dos cuadernos, que comprendieron las siguientes páginas y llevaron las fechas:

Cuaderno 1-2, págs. 1-180, 30 de junio de 1974.

Cuaderno 3-4, págs. 181-236, 15 de diciembre de 1975.

Indice de materias del Volumen XXIX

Acocil, hiperglucemia por asfixia en el, 215
Acocil *Procambarus bouvieri* (Ortmann), hiperglucemia experimental en el, 213
Acocil, pruebas de tolerancia a la glucosa en el, 219
Acociles normales y destallizados, curvas glucémicas en los, 219
Adenil ciclasa, hipótesis sobre la modulación hormonal en las membranas celulares, 209
Adenil ciclasa, insulina y sistema de la, 187
Adrenalina e hiperglucemia en *Procambarus bouvieri*, 216
Alcaloides, examen cualitativo en plantas colectadas en el estado de Morelos, México, 139
Alcaloides, método de Culvenor y Fitzgerald para determinación de, 140
Aloxana e hiperglucemia en *Procambarus bouvieri*, 216
Anteras de la "copa de oro", sacarosa en las, 229

Captores de fuerza a bajo costo, 231
Catálogo de las plantas contenidas en el "Herbario L'Amagatall" (Morelos, México), 1
Contribución al estudio de las plantas del estado de Morelos (México), 1
"Copa de oro", *Solandra nitida*, sacarosa en las anteras, 229
Culvenor y Fitzgerald, método para determinación de alcaloides, 140

Destallización e hiperglucemia en *Procambarus bouvieri*, 216
Diabetes e insulinoterapia, 193
Diabetes experimental, 195

Ensayos farmacológicos preliminares en plantas del "Herbario L'Amagatall", 151
Examen cualitativo de la presencia de alcaloides en plantas colectadas en el estado de Morelos, México, 139
Extractos de plantas: Métodos de preparación para ensayos farmacológicos, 152
Extractos de plantas: Prueba farmacológica de Burn (diuresis) en rata sin anestesiar, 155
Extractos de plantas: Prueba farmacológica de frecuencia respiratoria, en conejo sin anestesiar, 155
Extractos de plantas: Prueba farmacológica de glucemia, en conejos sin anestesiar, 155
Extractos de plantas: Prueba farmacológica de influencia sobre el efecto del Cardiazol, en ratón sin anestesiar, 155
Extractos de plantas: Prueba farmacológica de la acción sobre corazón aislado de rana, 155

Extractos de plantas: Prueba farmacológica de la acción sobre íleon aislado de cobayo, 155
Extractos de plantas: Prueba farmacológica de la acción sobre la presión arterial, en gato anestesiado, 155
Extractos de plantas: Prueba farmacológica de la acción sobre útero aislado de rata, 155
Extractos de plantas: Prueba farmacológica de la modificación en la amplitud respiratoria, en gato anestesiado, 155
Extractos de plantas: Prueba farmacológica de la tolerancia por vía intravenosa, en ratón sin anestesiar, 155
Extractos de plantas: Pruebas farmacológicas de efecto antihistamínico, 155
Extractos de plantas: Pruebas farmacológicas de Trendelenburg, en rana, 155

Farmacológicos, ensayos preliminares en plantas del "Herbario L'Amagatall', 151
Flores tropicales, componentes de, 289
Fosforilación oxidativa y funciones mitocondriales, 186
Fósforo inorgánico, participación de diversos órganos en su incorporación, 185
Fósforo inorgánico plasmático, homeostasis del, 182
Fósforo, insulina y recambio del, 181
Funciones mitocondriales y fosforilación oxidativa, 186

Glucagon e hiperglucemia en *Procambarus bouvieri,* 217
Glucémicas, curvas en acociles normales y destallizados, 219
Glucémicos, valores normales en *Procambarus bouvieri,* 214
Glucosa, eliminación de la, en acociles, 220
Glucosa, factores modificadores de su acción hipofosfatémica, 182
Glucosa, inyección de soluciones hipertónicas a acociles normales y destallizados, 219
Glucosa, pruebas de tolerancia en el acocil, 219

"Herbario L'Amagatall". Catálogo de las plantas del estado de Morelos, México, 1
"Herbario L'Amagatall", ensayos farmacológicos preliminares en plantas del, 151
Hiperglucemia experimental en el acocil *Procambarus bouvieri,* 213
Hiperglucemia por asfixia en *Procambarus bouvieri,* 215
Hiperglucemias producidas por substancias químicas en *Procambarus bouvieri,* 216
Hipofosfatemia rápida, substancias principales capaces de inducirla, 183
Homeostasis del fósforo inorgánico plasmático, principales factores reguladores en la, 182

Insulina, factores modificadores de su acción hipofosfatémica, 182
Insulina, precursores de su descubrimiento, 194, 196
Insulina, reflexiones sobre su descubrimiento, 193
Insulina, su efecto sobre nucleótidos libres, 186
Insulina, y recambio de fósforo, 181
Insulina y sistema de la adenil-ciclasa, 187
Insulinoterapia y diabetes, 193, 199, 200
"Isletín", primeras inyecciones a un diabético humano, 198
Islotes de Langerhanms, el papel antidiabético de los, 194

Membranas celulares, receptores insulínicos de las, 205
México, alcaloides en plantas colectadas en el estado de Morelos, 139
México, catálogo de las plantas del estado de Morelos, 1
Mitocondrias, fosforilación oxidativa y funciones, 186
Morelos, México: Clima, 3
Morelos, México: Contribución al estudio de las plantas del estado, 1
Morelos, México: Hidrografía, 2
Morelos, México: Orografía, 2
Morelos, México: Vegetación, 4

Nucleótidos libres, efecto de la insulina sobre, 186

Páncreas, hipótesis de una secreción interna antidiabética del, 94
Pancreatoterapia en la diabetes, 195
Plantas colectadas en el estado de Morelos, México, examen de alcaloides en, 139
Plantas del estado de Morelos, México, catálogo, 1
Plantas, preparación de extractos para ensayos farmacológicos, 152
Procambarus bouvieri, hiperglucemia experimental en el acocil, 213

Receptores insulínicos y acción hormonal, 205

Sacarosa en las anteras de la "copa de oro", *Solandra nitida* (Solanaceae), 229
Serotonina e hiperglucemia en *Procambarus bouvieri,* 216
Solanaceae: Sacarosa en las anteras de la "copa de oro", *Solandra nitida,* 229
Solandra nitida, sacarosa en las anteras de la "copa de oro", 229

"Transductores" de fuerza, 231

Suscripción anual 125.00 m/n ($11.00 US Cy.).

La colección completa, formada por los veintiocho volúmenes I (1940) a XXVIII (1973), vale $ 5 000.00 m/n ($ 500.00 US Cy.).

De los volúmenes I-V de CIENCIA no queda sino un número muy reducido de ejemplares, por lo que no se venden números ni volúmenes sueltos.

Los volúmenes sueltos VI (1946) a XXVIII (1973), valen cada uno $ 160.00 m/n (15.00 US Cy.).

Los números sueltos valen $ 35.00 m/n (3.00 US Cy.).

PUBLICACION TRIMESTRAL DEL PATRONATO DE CIENCIA DE MEXICO CON LA AYUDA ECONOMICA DEL CONSEJO NACIONAL DE CIENCIA Y TECNOLOGIA

Impreso en la Editorial Galache, S. A., México 7, D. F.
Publicada desde 1940.
Dirección General de Derechos del autor. Licitud Oficio núm. 90, Exp. CC FRI/68 de 30 de enero de 1968.
Reservados todos los derechos por la Revista Ciencia de México.
Se prohibe la publicación parcial o total sin autorización escrita.

Sus cartas serán oportunas si utiliza el servicio de entrega inmediata.

CIENCIA

Revista Hispano-americana de Ciencias puras y aplicadas